

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

SUR LA PRÉSENCE, ACTUELLEMENT CONTESTÉE, DU MAGNÉSIUM DANS LES GRAINS DE POLLEN

par GABRIEL BERTRAND.

Le magnésium est un des métaux dont la nécessité pour les plantes et pour les animaux est le plus sûrement établie. On a reconnu, par des expériences nombreuses et concordantes, que des champignons, des algues, des plantes supérieures, des animaux de laboratoire ne peuvent se développer normalement en l'absence d'une certaine proportion de magnésium dans leurs milieux alimentaires ; dépassant cette constatation de caractère général, on a réussi à entrevoir ou déjà même à mettre en évidence l'intervention du magnésium dans plusieurs processus biochimiques : l'assimilation chlorophyllienne, le métabolisme glucidique, etc.

On s'explique, dans ces conditions, la présence du magnésium dans tous les organismes vivants et même dans toutes les parties de ces organismes. Une exception a cependant été signalée ; elle est d'autant plus remarquable qu'il s'agit des grains de pollen, c'est-à-dire des cellules mâles chargées, chez les végétaux supérieurs, de la fécondation des ovules. Cette exception est du moins la conséquence des résultats publiés par Elser et Ganzmüller il y a quelques années et reproduits, depuis cette époque, par plusieurs ouvrages.

Dans une étude sur la composition chimique de quelques sortes de pollens (1), ces deux auteurs ont attaché une valeur particulière à l'analyse aussi complète que possible des cendres du pollen. En combinant les méthodes dites de la macroanalyse et de la microanalyse, ils ont exécuté ce qu'ils appellent une analyse complète sur 5 grammes de matière. Rassembler une telle quantité de pollen d'une seule espèce de plante, à l'abri de toute objection, est, observent-ils avec justesse, un assez grand travail. Ils ont opéré sur 3 sortes de pollens provenant de l'aune, du pin et du noisetier. Les espèces végétales en question ne sont pas désignées d'une façon plus précise dans le texte allemand que par les noms de : *Erle*, *Kiefer* et *Haselstaude*.

Pour les analyses chimiques, 2 à 3 grammes de substance furent calcinées dans une capsule de platine, les cendres blanches traitées deux fois par 2 cent. cubes d'acide nitrique au 1/5, les solutions filtrées dans une fiole, le volume amené à 100 cent. cubes ; le résidu fut calciné et pesé ; le liquide soumis, enfin, par portions aliquotes, aux divers dosages d'éléments minéraux. Notamment, « dans 20 cent. cubes, le calcium fut précipité de la manière connue à l'état d'oxalate », séparé après une nuit de repos par centrifugation et décantation, lavé trois fois de la même manière, puis titré au permanganate, après redissolution dans l'acide sulfurique.

Les auteurs ne disent pas s'ils ont vérifié que leur oxalate de calcium avait été suffisamment lavé pour ne pas renfermer d'oxalate magnésien. Ils ne donnent non plus aucun détail sur la façon dont ils ont recherché le magnésium dans l'eau-mère de précipitation du calcium. Ils se contentent de rapporter comme « particulièrement à noter... l'absence complète du magnésium » dans le pollen d'aune ; que ce métal « manque complètement aussi » dans celui du pin et dans celui du noisetier ; et ils ajoutent dans leurs conclusions que « au point de vue de la physiologie alimentaire, il est tout à fait caractéristique que le magnésium manque complètement dans les 3 sortes de pollen. Aucune trace de ce métal, soulignent-ils en terminant, ne se laisse démontrer ».

(1) *Zeits. f. physiol. Chem.*, 199, 1931, p. 21.

*
* *

Il m'a paru nécessaire, tant au point de vue de la biochimie comparée des êtres vivants que de la connaissance intime des phénomènes de fécondation et de reproduction, de contrôler la réalité de l'exception relatée plus haut et, quel que soit le résultat obtenu, d'en étendre la portée par l'examen d'un plus grand nombre d'espèces de pollens.

Tenant à opérer dans des conditions aussi sûres que possible, en particulier à l'abri de proportions de poussières atmosphériques, peut-être magnésiennes, susceptibles d'influencer positivement les résultats des analyses, j'ai porté une grande attention à l'origine et au mode de récolte des pollens.

Le maximum de garantie a été réalisé avec le lis blanc. Ayant cultivé la plante dans le jardin de l'Institut Pasteur et prélevé personnellement les anthères dans les fleurs prêtes à s'ouvrir ou à peine ouvertes, l'intervention des poussières atmosphériques a été à peu près totalement évitée. Les anthères ont été mises dans le vide, en présence d'acide sulfurique, puis, une fois sèches, passées au tamis de soie. En recommençant cette opération plusieurs années de suite, j'ai rassemblé environ 14 grammes de pollen sec. J'ai récolté dans des conditions analogues du pollen de maïs : tant sur des pieds de la plante, cultivée aussi plusieurs années de suite dans le jardin de l'Institut Pasteur, qu'une fois sur les pieds d'un champ situé en Vendée, j'ai enlevé les inflorescences mâles et les ai mises à sécher à la température ordinaire, entre des feuilles de papier ; puis le pollen a été séparé par tamisage. L'échantillon de pollen ainsi obtenu, du poids de 12 gr. 5, était un peu moins pur que le précédent, mais ne renfermait cependant, comme on le verra, qu'une proportion de poussières minérales extrêmement réduite, ne pouvant, semble-t-il du moins au premier abord, apporter de perturbation sensible dans la conclusion à tirer de l'analyse.

Je n'ai pas été aussi heureux avec le pollen de noisetier. Des chatons de cet arbrisseau ont été récoltés dans le jardin du laboratoire, séchés à la température ordinaire sous couverture de papier et passés au tamis de soie. Les grains de

pollen rassemblés paraissaient très propres, mais, à l'analyse, ils renfermaient du sable et de l'argile dans la proportion de 5 p. 100 environ du poids de la matière sèche. Ce résultat montre avec quelle facilité les chatons avaient capté les poussières atmosphériques. L'influence quantitative de ces poussières sur la recherche et le dosage du magnésium sera examinée plus loin.

Outre les pollens récoltés par moi-même, j'ai pu m'en procurer plusieurs autres sortes, grâce à l'obligeance de correspondants qui ont bien voulu les recueillir et les préparer dans des conditions aussi convenables que possible au cours de ces dernières années (2). Ces nouvelles sortes de pollens ont été choisies, les unes identiques ou voisines de celles analysées par Elser et Ganzmüller, les autres, au contraire, très différentes, à la fois au point de vue botanique et au point de vue géographique.

La recherche du magnésium a porté, en définitive, sur les pollens provenant des espèces végétales suivantes :

Monocotylédones.

Maïs (*Zea mays* L.).

Lis blanc (*Lilium album* L.).

Dattier (*Phoenix dactylifera* L.) de l'Afrique du Nord (3).

Palmier à huile (*Elæis guineensis* Jacq.) de Sumatra (4).

Dicotylédones.

a) Gymnospermes : Pin sylvestre (*Pinus sylvestris* L.) de la région de Gap [Hautes-Alpes] (5).

Pin sylvestre [autre échantillon] (6).

Pin maritime (*Pinus pinaster* Sol.) de la région de Dax [Landes] (7).

(2) Je suis heureux de pouvoir remercier ici ces correspondants de leur obligeance ; je remercie également MM. Guinier, directeur de l'Ecole nationale des Eaux et Forêts de Nancy, Edmond Sergent, directeur de l'Institut Pasteur d'Algérie, et Macheboeuf, professeur à la Faculté de Médecine de Bordeaux, qui m'ont mis en relation avec plusieurs d'entre eux.

(3) Recueilli par M. le Dr Crespin, de Biskra, et par M. le médecin-major Céard, de l'hôpital militaire de Colomb-Béchar.

(4) Envoyé par la Société hollandaise A.V.R.O.S. établie à Médan-Deli.

(5) Recueilli par M. Reneuve, inspecteur des Eaux et Forêts, à Gap.

(6) Provenant du droguier de la Faculté de Pharmacie de Paris et mis à ma disposition par M. le professeur Mascré.

(7) Recueilli par M. Bruce de l'Institut du Pin de Bordeaux.

b) Angiospermes : Aune vert (*Alnus viridis* D. C.) de la commune de Fontcouverte [Savoie] (8).

Noisetier (*Corylus avellana* L.).

MÉTHODE D'ANALYSE UTILISÉE. — Le but essentiel de ce travail étant de rechercher le magnésium dans les grains de pollen et, le cas échéant, de fournir de la présence de ce métal une démonstration incontestable, je n'ai pas cru pouvoir me contenter d'une méthode dite de microanalyse. Une telle méthode aurait beaucoup simplifié le travail, d'abord en n'exigeant que de petites quantités de pollens dont la récolte eût été facile, ensuite en abrégant la durée des opérations analytiques ; mais elle n'aurait pas permis une identification suffisante du magnésium. J'ai donc préféré une méthode permettant d'isoler le métal cherché non seulement sous une forme définie et caractéristique mais, de plus, en quantité pondérable, de manière à pouvoir procéder, en terminant, à des réactions de contrôle définitives.

4 à 5 grammes de pollen, séché à 100-105°, ont été calcinés, en 1 ou 2 temps suivant les cas, à une température atteignant au plus le rouge sombre. Les cendres ont été arrosées avec un peu d'acide chlorhydrique demi-normal, dans lequel elles se sont facilement et presque totalement dissoutes. On a évaporé à sec au bain-marie, humecté le résidu avec de l'acide chlorhydrique, ajouté quelques centimètres cubes d'eau et filtré. La partie insoluble, lavée, séchée, calcinée et pesée, s'est présentée dans tous les cas comme un mélange à peu près exclusivement formé de sable et d'argile.

La solution acide, avec les eaux de lavage, a été additionnée d'un peu de chlorure d'ammonium, alcalinisée par l'ammoniaque, puis réacidifiée très légèrement par l'acide acétique. Le précipité, constitué surtout de phosphate de fer, a été séparé. On l'a redissous dans ClH dilué, reprécipité par l'ammoniaque et l'acide acétique, filtré de nouveau et bien lavé.

Le liquide débarrassé de fer a été précipité à chaud par l'oxalate d'ammoniaque, ajouté en petit excès ; l'oxalate de calcium a été filtré et lavé à l'eau bouillante, de manière à le

(8) Récolté par M. J. Messine, inspecteur des Eaux et Forêts, chef du Service du reboisement, à Chambéry.

débarrasser complètement de l'oxalate de magnésium qu'il aurait pu entraîner (vérification au permanganate).

La totalité du liquide provenant de la séparation et du lavage de l'oxalate de calcium a été abandonnée au refroidissement jusqu'au lendemain : il s'est déposé une minime quantité d'oxalate qui a été séparée à son tour par filtration et lavage avec un peu d'eau bouillante.

Les eaux-mères et de lavage réunies de l'oxalate calcique, dans lesquelles devait se trouver le magnésium, ont été évaporées à sec dans une capsule de platine et l'extrait chauffé progressivement, jusqu'au rouge naissant, pour chasser les sels ammoniacaux. Le résidu a été redissous dans l'acide chlorhydrique, la solution additionnée, dans la capsule même, de 1 cent. cube de CINH^4 au 1/10, alcalinisée par l'ammoniaque, réacidifiée par l'acide acétique et chauffée au bain-marie. On y a versé quelques gouttes d'oxalate d'ammonium et laissé refroidir jusqu'au lendemain. Le petit précipité a été filtré, lavé à l'eau bouillante ; les liquides réunis ont été partiellement concentrés, de manière que le magnésium se trouve finalement dans un volume de 5 cent. cubes environ, auquel on a ajouté 1 à 2 décigrammes d'acide citrique, de l'ammoniaque pour alcaliniser et, goutte à goutte, en remuant au fur et à mesure, une solution de phosphate de sodium, jusqu'à ce que le précipité formé n'augmente plus. On a versé alors assez d'ammoniaque pour que le liquide en renferme un

TABLEAU I.

	PRISE d'essai	CENDRES totales	CENDRES insolubles dans ClH	PHOSPHATES Fe, Al	Ca	Mg
Mais.	3,5746	3,371	0,347 (1)	0,039	0,091	0,117
Lis blanc	3,5893	4,984	0,050	0,014	0,159	0,043
Dattier.	4,5170	7,682	1,744 (2)	0,201	0,703	0,279
Palmier à huile	4,4217	6,946	0,172 (3)	0,312	1,503	0,308
Pin sylvestre.	4,5760	2,896	0,113	0,055	0,051	0,109
Pin sylvestre (autre échantillon).	1,424	3,370	0,407	0,147	0,179	0,103
Pin des Landes	4,6510	3,042	0,013	0,056	0,028	0,088
Aune vert.	5,0072	3,217	0,383	0,417	0,096	0,098
Noisetier.	0,3341	9,37	4,74	»	0,77	0,035

(1) Formées presque exclusivement de sable.

(2) Y compris un peu de silice (0,046) récupérée au cours de l'analyse.

(3) Y compris un peu de silice (0,095) récupérée au cours de l'analyse.

cinquième de son volume et l'on a attendu vingt-quatre heures avant de recueillir le phosphate ammoniaco-magnésien. Les cristaux, bien lavés à l'eau ammoniacale, ont été séchés, calcinés et pesés comme pyrophosphate de magnésium.

Ci-contre, tableau I, les résultats quantitatifs obtenus, ramenés à 100 parties de matières sèches.

IDENTIFICATION DU MAGNÉSIUM. — La présence de magnésium dans le pyrophosphate a été vérifiée de la manière suivante. Un peu d'un mélange équimoléculaire de carbonates de sodium et de potassium a été versé sur le pyrophosphate après la pesée et le tout chauffé au rouge vif, la masse fondue étant remuée avec un gros fil de platine pour faciliter l'attaque. Lorsqu'on a jugé cette dernière terminée, on a laissé refroidir. Le produit de fusion, plus ou moins coloré en bleu ou bleu-vert par un peu de manganèse, a été repris par une petite quantité d'eau et l'on a séparé, à l'aide d'un petit filtre, un liquide alcalin, dans lequel le phosphore était passé en solution, et un précipité blanc, pulvérulent, contenant le magnésium à l'état de carbonate. Dans les cas du second échantillon de pollen de pin sylvestre et du pollen de noisetier, l'attaque du pyrophosphate a été réalisée avec une perle de carbonates alcalins portée sur une boucle de platine ; le traitement par l'eau de la perle refroidie a été fait dans un verre de montre et le précipité insoluble a été séparé par filtration capillaire à l'aide d'une bande étroite de papier Berzélius.

Par addition de quelques gouttes d'acide sulfurique au 1/10, puis évaporation de la solution et de l'excès d'acide qu'elle renfermait dans une petite capsule de platine, le carbonate a été transformé en sulfate neutre ; ce dernier était très soluble dans l'eau (donc pratiquement exempt de calcium) et l'on a pu réaliser avec lui, de la manière la plus nette, deux réactions colorées caractéristiques : 1° la réaction de Schlagdenhauffen, dite « à l'hypoiodite de magnésium », effectuée selon la technique de P. Remy-Genneté (9) et, 2° la réaction de Cazeneuve-Feigl, à la diphénylcarbamide (10).

(9) *Bull. Soc. chim.*, 5^e sér., 5, 1938, p. 666-675.

(10) CAZENEUVE (P.). *C. R. Ac. Sc.*, 131, 1900, p. 346 ; FEIGL (F.) et NEUBERG (F.), *Zeits. f. analyt. Chem.*, 62, 1923, p. 370 ; FEIGL (F.), *ibid.*, 72, 1927, p. 113 et 74, 1928, p. 399.

Tous les réactifs et l'eau distillée utilisés pour l'exécution des analyses ayant été purifiés au laboratoire et ne contenant pas de magnésium, il est possible d'affirmer que les précipités pesés comme pyrophosphate provenaient des pollens et qu'ils étaient formés essentiellement de pyrophosphate de magnésium.

*
* *

Reste à examiner si les faibles quantités de poussières minérales contenues, malgré les précautions prises, dans les échantillons de pollens pouvaient avoir apporté le magnésium dosé en fin d'analyse. Ces poussières, examinées après la calcination, se sont montrées, ainsi qu'il a déjà été mentionné, constituées par du sable et de l'argile. Selon toute vraisemblance, elles provenaient du sol et avaient été transportées de celui-ci jusqu'aux étamines par l'effet du vent. Combien pouvaient-elles avoir contenu de magnésium à ce moment ?

Les sols cultivables renferment, suivant leur origine, des proportions très variables de combinaisons magnésiennes. On ne possède pas encore beaucoup de chiffres pour étayer cette notion, mais en se reportant aux analyses de Ch. Brioux et Edg. Jouis (11), de E.-M. Bastisse (12) et de J. Lavollay (13), on peut en avoir déjà une première idée.

Brioux et Jouis ont dosé, dans une vingtaine d'échantillons de sols bien caractérisés du département de la Seine-Inférieure, la magnésie soluble dans l'acide nitrique concentré, selon la méthode de E. Dupont (14), et la magnésie soluble dans l'acide nitrique faible, selon la méthode de Sigmond. En calculant leurs résultats en magnésium et en les rapportant à 100 grammes de terres séchées, on trouve qu'ils ont rencontré dans le premier cas de 0 gr. 010 à 0 gr. 017 de métal alcalino-terreux dans les alluvions sableuses anciennes ; jusqu'à 0 gr. 336 dans des alluvions marines ; 0 gr. 349 et 0 gr. 368 dans des alluvions calcaires de la Seine. Deux argiles à silex renfermaient 0 gr. 066 et 0 gr. 097. Enfin 13 échantillons de

(11) *Ann. agron.* (Nouvelle série), 2, 1932, p. 146-169.

(12) *Ibid.*, 6, 1936, p. 41-64.

(13) *Thèse Fac. Sciences*, Paris, 1936, p. 171 ; Hermann et Cie, édit.

(14) *Ann. Sc. agron.*, 1926, p. 458.

limons des plateaux contenaient de 0 gr. 102 à 0 gr. 179 de magnésium. Les proportions de métal étaient dans le second cas de dix à vingt fois plus petites.

Bastisse a dosé aussi la magnésie soluble dans les acides forts. Ses expériences ont porté sur 27 terres provenant de différentes régions de la France. Ses chiffres, calculés en magnésium pour 100 grammes de matières sèches, sont les suivants : dans 21 terres formées, soit de limon des plateaux, soit d'alluvions modernes et anciennes, d'argiles à silex, de diluvium alpin, ou granulitiques humifères, ou sablonneuses légères granitiques, ou calcaire de Champagne, de 0 gr. 146 à 0 gr. 331. Le chiffre le plus bas est celui donné par le sable de Fontainebleau : 0 gr. 071 ; les plus hauts par les terres d'alluvions calcaires de Vaucluse, 0 gr. 713, sur molasse calcaire de Haute-Garonne, 0 gr. 773 et noire de Limagne, 1 gr. 361. Enfin les deux échantillons suivants ont fourni des résultats intermédiaires : terre argilocalcaire jurassique, 0 gr. 423 et terre rouge du Var, 0 gr. 493.

Les déterminations quantitatives de J. Lavollay sont moins nombreuses. Il a trouvé dans huit échantillons de sols français de 0 gr. 183 à 0 gr. 446 de magnésium soluble dans l'acide nitrique fort pour 100 grammes de terre sèche.

J'ai dosé le magnésium dans la terre du jardin de l'Institut Pasteur et dans celle du champ de Vendée dans lesquels j'avais fait mes principales récoltes de pollens. Ces terres ont été séchées à la température du laboratoire, passées au tamis de 1 millimètre de maille et des prises d'essai, voisines de 2 grammes, ont été chauffées à l'étuve à + 100-105°, puis calcinées au rouge sombre et analysées de la même manière que les cendres de pollens. Les chiffres suivants ont été trouvés :

POUR 100 de terre séchée à 100-105°	JARDIN de l'Institut Pasteur	CHAMP de Vendée
Cendres totales.	88,43	93,85
Cendres insolubles dans le ClH étendu.	60,83	83,87
Magnésium.	0,32	0,18

D'où on peut calculer que 100 parties de cendres insolubles dans l'acide chlorhydrique correspondent à un apport de 0,52 de magnésium dans le cas de la terre du jardin de l'Institut

Pasteur et de 0,21 dans celui de la terre du champ de Vendée.

En observant que les teneurs en magnésium des terres du jardin de l'Institut Pasteur et du champ de Vendée sont comprises dans les limites rencontrées par Brioux et Jouis, par Bastisse et par Lavollay, et en tenant compte des données analytiques ci-dessus relatives aux deux terres, il semble que l'on soit plutôt au-dessus de la vérité en admettant que les résidus argilo-sableux calcinés formant la partie des cendres de pollen insolubles dans l'acide chlorhydrique étendu représentent des apports de magnésium de l'ordre de grandeur de 0,5 p. 100 de leur poids.

Dans ces conditions, et comme le montre le tableau ci-dessous, dans lequel tous les chiffres sont rapportés à 400 grammes de pollen sec, il n'y a pas à tenir compte de tels apports dans les résultats obtenus plus haut pour décider s'il y a ou non du magnésium dans les grains de pollen.

TABLEAU II.

	INSOLUBLE dans ClH	Mg correspondant	Mg trouvé
Maïs	0,347	0,001 7	0,417
Lis	0,050	0,000 25	0,043
Dattier	1,744	0,008 7	0,279
Palmier à huile	0,172	0,000 86	0,308
Pin sylvestre	0,413	0,000 57	0,109
Pin sylvestre (autre échantillon)	0,407	0,002	0,103
Pin des Landes	0,043	0,000 07	0,088
Aune vert	0,383	0,001 9	0,098
Noisetier	4,741	0,024	0,035

La proportion de magnésium trouvée dans le pollen de noisetier est la seule qui soit un peu supérieure à celle ayant pu être apportée par les poussières minérales. Mais il faut remarquer que la prise d'essai de pollen soumise au dosage ayant été, faute de matière, fort petite, la solution finale des cendres ne contenait qu'une quantité minime de magnésium. Or, comme il ne peut précipiter que le phosphate ammoniaco-magnésien en excès sur ce qu'il en faut pour saturer le liquide, il n'a été recueilli qu'un poids du sel magnésien relativement très inférieur à celui qui existait en réalité. Si l'expérience avait porté, comme les autres, sur 4 à 5 grammes

de pollen, la proportion de magnésium trouvée aurait certainement été plus élevée. En raison de la difficulté de récolte du pollen de noisetier et de la netteté de tous les autres résultats, je n'ai pas jugé nécessaire d'entreprendre à nouveau l'expérience.

Pourquoi, reste-t-il à se demander, Elser et Ganzmüller n'ont-ils pas réussi à trouver de magnésium ?

Ces auteurs opéraient sur 20 cent. cubes de solution acide des cendres correspondant à un poids de pollen compris entre 0 gr. 4 et 0 gr. 6. D'après leur description « ils précipitaient d'abord le calcium à l'état d'oxalate de la manière connue » et « le magnésium fut recherché dans le filtrat ». Les auteurs ne faisant aucune allusion au traitement préalable que comporte la présence de l'acide phosphorique dans la solution des cendres, il n'est pas interdit de supposer qu'ils ont précipité le calcium par addition d'oxalate d'ammonium et d'ammoniaque, de telle manière que l'oxalate calcique a été accompagné du magnésium à l'état de phosphate et qu'il n'en restait plus ou pour ainsi dire plus dans le filtrat. On peut encore supposer, dans le cas où les deux auteurs auraient d'abord éliminé l'acide phosphorique ou effectué la précipitation du calcium en milieu acétique, qu'ils n'ont pas concentré le filtrat, de sorte que le magnésium était à une trop forte dilution et ne pouvait plus précipiter.

En résumé, la notion de l'absence complète du magnésium dans la poussière fécondante des fleurs ne peut provenir que d'une erreur analytique ; ce métal est présent dans le pollen en proportions peu élevées, mais pondérables, comme dans tous les organes des plantes.

LA DESSICCATION N'ATTÉNUÉ PAS LE VIRUS RABIQUE ELLE LE CONSERVE

(PREMIER MÉMOIRE)

par P. REMLINGER et J. BAILLY.

Depuis les travaux de Pasteur, l'action atténuante de la dessiccation sur le virus rabique est considérée comme un dogme. Il est même admis que les passages de lapin à lapin ont pour résultat de rendre le virus de plus en plus sensible à son action (1). Dans les premiers temps de la méthode pasteurienne, c'est le sixième ou le septième jour que la virulence disparaissait dans les tronçons de la moelle suspendus dans les flacons de Mariotte garnis de potasse et conservés à l'obscurité à une température de 23°. Aujourd'hui, après 2.000 passages environ, c'est déjà après trois ou quatre jours que ces mêmes tronçons deviennent inactifs. Vansteenberghe (2), Remlinger et Osman Nouri (3) ont montré que, si on desséchait rapidement, dans le vide sulfurique, en présence de la potasse ou même au seul contact de l'air, un cerveau rabique étalé en couche mince à la surface d'une lame de verre, le virus conservait, dans la poudre obtenue, son activité pendant plusieurs mois. Il n'a pas été attaché à ce fait l'importance qu'il comportait, importance qui dépasse de beaucoup la question de la Rage et paraît devoir s'étendre pour le moins à tous les virus neurotropes. A tort, il a été envisagé beaucoup plus au point de vue des applications pra-

(1) REMLINGER (P.) et BAILLY (J.). Influence des passages de lapin à lapin sur la sensibilité du virus rabique à la dessiccation. et à la glycérine. *Soc. de Biologie*, 23 mars 1935 et *Ces Annales*, 25 octobre 1935 (numéro commémoratif de la rage).

(2) VANSTEENBERGHE. Procédé de conservation du virus rabique à l'état sec. *Soc. de Biologie*, 19 décembre 1903, p. 1646-1647.

(3) REMLINGER et OSMAN NOURI. Sur la dessiccation du virus rabique en présence de l'acide sulfurique. *Soc. de Biologie*, 30 mai 1908, p. 945-47.

tiques qu'il pouvait comporter (Harris) que des déductions scientifiques qu'il était possible d'en tirer. Nous avons répété maintes fois l'expérience de Vansteenberghé dans des conditions permettant d'éviter toute cause d'erreur. Un lapin étant mort de rage à virus de rue ou à virus fixe, la moelle épinière est, en suivant les sillons médians de l'organe, divisée par section longitudinale en deux tronçons égaux. L'un d'eux est suspendu dans un flacon de Mariotte d'un litre et demi de capacité, garni de 150 grammes de potasse dans les conditions classiques du traitement pasteurien. L'autre moitié est broyée finement dans un mortier ; la pulpe est étalée en couche mince sur une lame de verre et exposée dans un dessiccateur à l'action du vide et de la chaux vive. Après des laps de temps variables, on coupe 1 centimètre de la moelle en flacon et on recueille 1 centigramme de poudre. Après émulsion dans 2 cent. cubes d'eau physiologique, ces produits sont inoculés, à la dose de 0 c. c. 3 sous la dure-mère du lapin. Quoique variables avec les virus sur lesquels il est expérimenté, les résultats sont très constants et l'opposition entre la moelle desséchée lentement sur potasse et rapidement dans le vide est des plus nettes.

Ayant ainsi repris la question de l'action de la dessiccation sur le virus rabique, il nous a été possible d'apporter aux notions déjà acquises un complément imprévu. Alors qu'on connaît le peu de résistance du virus rabique frais à la chaleur puisqu'il est déjà détruit par une température de 60° prolongée 30 minutes et en quelques minutes seulement par une température de 65°, le même virus rapidement desséché résiste deux, trois, quatre et même cinq minutes à des températures supérieures à 100° (105° et même 110°).

EXPÉRIENCE 1. — *Action de températures supérieures à 100° sur des poudres de virus rabique (virus de rue et virus fixe).*

Le cerveau d'un lapin venant de succomber à la rage des rues ou au virus fixe est réduit en une pulpe qu'on étale à la surface d'une lame de verre et qu'on soumet à une évaporation rapide et complète dans le vide, en présence de chaux vive, à une température de 18 à 21°. Lorsque la dessiccation du virus est assez accusée pour qu'on puisse obtenir une poudre fine, celle-ci est chauffée dans une étuve sèche à des températures et pendant un nombre de minutes variable, mais rigoureusement mesuré. Chaque fois, des échantillons prélevés sont

émulsionnés dans de l'eau physiologique et inoculés sous la dure-mère du lapin. Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux suivants :

TABLEAU I. — *Virus rabique de rue.*

NOMBRE de minutes pendant lesquelles la poudre a été chauffée	DATE de l'expérience	TEMPÉRATURES auxquelles les poudres desséchées ont été exposées										
		100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110
2 minutes . . .	{ 30 mai. 10 août.				+	+	+		0	0	0	
3 minutes . . .	{ 31 mai. 3 juin. 24 juin.		+		+	+			0	0	0	
4 minutes . . .	6 juillet.				+	0	0					
5 minutes . . .	{ 14 juin. 13 juin. 24 juin.				0	0	0		0	0	0	
		0	0	0								

TABLEAU II. — *Virus rabique fixe.*

NOMBRE DE MINUTES pendant lesquelles la poudre a été chauffée	DATE DE L'EXPÉRIENCE	TEMPÉRATURES auxquelles les poudres desséchées ont été exposées et résultat des inoculations
5 minutes	28 août.	101 +
5 minutes	28 août.	101 +
5 minutes	29 août.	103 +
5 minutes	29 août.	103 +
5 minutes	30 août.	106 +
5 minutes	30 août.	106 +
5 minutes	7 septembre.	110 +
5 minutes	7 septembre.	110 —
5 minutes	8 septembre.	116 —
5 minutes	8 septembre.	116 —
5 minutes	9 septembre.	121 —

Des deux expériences, celle de Pasteur et celle de Vansteenberghe, laquelle exprime le mieux l'action de la dessiccation sur le virus rabique ? Il ne semble pas que ce soit la première qui est complexe, fait intervenir plusieurs facteurs : courant d'air, potasse, moelle entière, et se prolonge plusieurs jours pendant lesquels s'exercent ces facteurs. Il semble que ce soit

la seconde, très simple (action de la seule dessiccation) et si rapide qu'aucune autre action n'a le temps de se manifester. Il semble ainsi que de l'expérience de Vansteenberghé et des nôtres, on soit en droit de conclure que la dessiccation est beaucoup moins un facteur d'atténuation du virus rabique qu'un facteur de conservation... Il n'en est pas moins vrai que, dans les flacons de Mariotte de la vaccination antirabique classique, la virulence des moelles s'atténue non seulement rapidement mais encore de plus en plus vite en fonction du nombre de passages. Il est certain aussi que, dans cette atténuation de la virulence, le rôle de la potasse est réel. Les moelles cervicale, dorsale et lombaire de deux lapins de même poids ayant succombé au virus fixe ou au virus de rue sont suspendues dans des flacons de Mariotte. Les uns sont garnis, les autres dépourvus de potasse. Chaque jour, à partir du quatrième, on coupe dans les deux séries de moelles (avec ou sans potasse) une égale quantité de virus qui sert à trépaner des lapins dans des conditions rigoureusement identiques. A Constantinople, les expériences de l'un de nous avaient déjà montré en 1908 que le cinquième ou le sixième jour de la dessiccation, les moelles desséchées sur la potasse n'étaient plus virulentes tandis que celles exposées simplement à la température de 23° et au léger courant d'air des flacons étaient encore capables de donner la rage le septième et le huitième jour et parfois le neuvième et le dixième. A Tanger, en 1939, les choses ne se passent pas différemment. Les expériences suivantes en témoignent :

EXPÉRIENCE 2. — *Expertise comparative de la virulence de moelles rabiques suspendues dans des flacons garnis ou dépourvus de potasse.*

Un lapin étant mort du virus fixe, la moelle cervicale est extraite et divisée en deux tronçons qui sont suspendus dans des flacons de Mariotte de 1 lit. 5. L'un de ces flacons contient 150 grammes de potasse en bâtons et l'autre n'en contient pas. On suspend les deux tronçons dans chacun de ces deux flacons en ayant soin de fixer le fil à l'extrémité bulbaire de l'un, à l'extrémité dorsale de l'autre, de manière que les bouts libres soient ceux de la région moyenne de la moelle cervicale. C'est dans cette région qu'on coupera les échantillons qui serviront aux passages. Chaque fois, on coupe 1/2 centimètre de moelle qu'on émulsionne dans 5 cent. cubes d'eau et 0 c. c. 2 de cette émulsion sont inoculés sous la dure-mère du lapin. Les résultats obtenus sont fixés dans le tableau suivant :

DURÉE de la dessiccation	FLACON avec potasse	FLACON sans potasse
—	—	—
24 heures	+	+
48 heures	+	+
3 jours	+	+
4 jours	+	+
5 jours	—	+
6 jours	—	+
7 jours	—	+
8 jours	—	+
9 jours	—	—

EXPÉRIENCE 3. — *Expertise comparative de la virulence de moelles rabiques suspendues dans des flacons garnis ou dépourvus de potasse.*

Les moelles épinières de 2 lapins de même taille inoculés en même temps avec le virus fixe de Tanger et morts simultanément, c'est-à-dire deux moelles aussi identiques que possible, sont suspendues dans des flacons de Mariotte de 1 lit. 5. L'un de ces flacons renferme 150 grammes de potasse en bâtons ; l'autre est dépourvu de potasse. A des intervalles de temps variés, on coupe de chaque moelle 1 centimètre qu'on émulsionne dans 5 cent. cubes d'eau physiologique. 0 c. c. 3 sont inoculés sous la dure-mère du lapin. Les moelles sont suspendues par leur bout cervical de sorte que les prises des échantillons portent chaque fois sur des régions homologues. Les résultats obtenus ont été les suivants :

DURÉE de la dessiccation	FLACON avec potasse	FLACON sans potasse
—	—	—
45 heures	+	+
50 heures	+	+
63 heures	+	+
69 heures	—	+
74 heures	—	+
89 heures	—	+
93 heures	—	+
98 heures	—	+
113 heures	—	—
122 heures	—	—

Les moelles des flacons à potasse conservent donc leur virulence un nombre de jours très inférieur aux moelles des flacons dépourvus de potasse.

Les causes de l'atténuation de la virulence des moelles rabiques en flacons de Mariotte sont multiples. Que se passe-t-il exactement dans les tronçons de moelle épinière qui y sont suspendus aussitôt après leur extraction ? Un phénomène connu dans la pratique sous le nom de « maturation ». On sait que, si on maintient des fragments de tissus animaux à l'abri

des bactéries de la putréfaction à une température de 20 à 30°, on observe une liquéfaction dont la précocité et l'intensité sont en rapport avec la nature des tissus. Elle est d'autant plus rapide et plus accusée que le tissu est plus mou. Il s'agit d'une auto-digestion due à des ferments protéolytiques cellulaires. Ces ferments préexistent à la mort, mais pendant la vie, ils subissent une inhibition complète. Qu'un groupe de cellules soit séparé de l'organisme et placé dans des conditions dysgénésiques, ou qu'un territoire de l'organisme lui-même soit voué à la mort par des causes pathologiques (thrombose, embolie, compression, etc...), les ferments entrent en jeu. Le résultat de leur action constitue la nécrobiose, la nécrose, la cytolyse. Une condition essentielle à l'activité des ferments est un certain degré d'humidité. La dessiccation les paralyse. Elle s'oppose à l'autolyse. N'est-il pas tout naturel d'attribuer aux ferments protéolytiques des moelles la destruction du virus ? Cette manière de voir a l'avantage de s'appuyer sur un phénomène connu et tout à fait général dont les applications sont innombrables. On sait, par exemple, que les ferments protéolytiques cellulaires sont des facteurs puissants de la destruction des cadavres. C'est, d'autre part, aux premières phases de l'action de ces ferments qu'est due la maturation des viandes de consommation. La chair musculaire des animaux fraîchement abattus est dure et insipide. Transformation organoleptique due à un début d'autolyse des fibres musculaires, celle des animaux sacrifiés depuis un ou deux jours est, au contraire, tendre et savoureuse... Inversement, un des procédés les plus anciennement connus de conservation des viandes consiste à débiter la chair en lames minces et à exposer celles-ci au vent et au soleil. La dessiccation rapide empêche les ferments protéolytiques d'agir et la préparation ne subit aucune altération à la condition d'être conservée à l'abri de l'humidité.

Dans les moelles de lapins rabiques, la protéolyse atteint d'emblée le maximum de son intensité au cours des premières heures de l'exposition sur la potasse des flacons Pasteur. L'activité des ferments va ensuite en décroissant au fur et à mesure que l'évaporation, favorisée par la potasse, prive les tissus nerveux de l'eau nécessaire à leur action. Lorsque la

moelle est complètement desséchée, la protéolyse est nulle. L'atténuation de la virulence rabique suit une marche parallèle. Très intense dès les premières heures, elle va en décroissant avec les progrès de la dessiccation des moelles. Elle est en rapport avec le degré de liberté laissé à l'action du ferment, action qui, pour s'exercer, a besoin d'un peu d'humidité, mais souffrirait d'un excès de celle-ci. On doit à l'admirable génie de Pasteur un procédé de dessiccation assez ménagé pour que cette destruction soit complète avant que la dessiccation ait paralysé l'action des ferments protéolytiques. Le flacon de Mariotte de 1 lit. $\frac{1}{2}$ de capacité muni de deux tubulures bouchées au coton et renfermant environ 200 grammes de potasse caustique réalise à la perfection les conditions requises : la dessiccation n'est pas assez rapide pour que la protéolyse soit entravée au point d'empêcher l'action sur le virus ; elle atteint cependant un degré suffisant pour empêcher la pullulation des bactéries qu'il est pratiquement impossible d'éviter au cours de l'extraction des moelles. Enfin, au moment où la dessiccation de la moelle est complète, l'œuvre de protéolyse sur le virus est assez avancée pour que le tissu nerveux soit entièrement privé de virulence. Il y a là plusieurs facteurs agissant simultanément et en sens inverse dont l'association harmonieuse confond l'imagination si on veut bien considérer qu'ils étaient inconnus de Pasteur à l'époque de ses travaux et que la perte de la virulence rabique était, par hypothèse, rapportée à une cause qu'aujourd'hui nous savons inefficace.

*
* *

Une preuve de ce que dans les flacons de Mariotte ce n'est pas la dessiccation mais le ferment protéolytique qui agit pour atténuer la virulence des moelles peut être tirée de la comparaison des dessiccations lente et rapide à l'égard du virus rabique et du virus de la Maladie d'Aujeszký. Suspendues en flacons de Mariotte, les moelles des lapins ayant succombé au virus d'Aujeszký hongrois sont encore virulentes le cent quatre-vingt-treizième jour et ne le sont plus le deux centième. Les moelles des lapins morts du virus d'Aujeszký tangérois sont encore virulentes le deux centième jour et ne le sont plus

le deux cent trente-et-unième jour. Il est ainsi permis de dire que le virus d'Aujeszký est cinquante fois moins sensible que le virus rabique à la dessiccation lente. Un écart analogue s'observe-t-il en cas de dessiccation brusque ? Non. Une émulsion épaisse de cerveau ou de moelle de lapin ayant succombé soit au virus rabique fixe, soit au virus d'Aujeszký tangérois, est étalée en couche aussi mince que possible à la surface d'un verre stérile. Ce verre est placé sous une cloche dont le fond est recouvert d'une épaisse couche de chaux vive. Le tout est mis à l'obscurité et à une température de $+21^{\circ}$. A des intervalles variables, on prélève par raclage une petite quantité de la poussière sèche qui représente l'émulsion ; on la broie dans l'eau physiologique et quelques gouttes sont inoculées sous la dure-mère du lapin. Conservée à l'abri de toute trace d'humidité, la poudre de virus rabique fixe desséchée dans ces conditions était encore virulente le soixante-quinzième jour et ne l'était plus le cent cinquième jour. La poudre obtenue avec le cerveau d'un lapin mort du virus d'Aujeszký hongrois était encore virulente le centième jour et ne l'était plus le cent cinquantième. La poudre obtenue avec le cerveau et la moelle d'un premier lapin inoculé avec le virus d'Aujeszký tangérois était encore virulente le quatre-vingt-quinzième jour et ne l'était plus le centième. La poudre obtenue avec la moelle seule d'un deuxième lapin ayant succombé au même virus était encore virulente le soixante-quinzième jour et ne l'était plus le cent vingt-cinquième. Alors que, vis-à-vis d'une dessiccation lente, le virus d'Aujeszký se comporte d'une façon différente du virus rabique, il se comporte absolument comme lui à l'égard d'une dessiccation rapide. C'est que le ferment protéolytique a toute liberté d'action à l'égard des moelles rabiques. D'où disparition de la virulence en quatre à six jours. Au cas de Maladie d'Aujeszký, à l'action de ce ferment, s'oppose au contraire celle d'un principe protéolytique ou mieux neurolytique très spécial, extrêmement énergétique, sur lequel nous avons, les premiers, attiré l'attention (4). Les deux actions s'opposent, se neutralisent. D'où, conservation de la virulence pendant cent quatre-vingt-treize à deux

(4) Ces *Annales*, 52, avril 1934, p. 369.

cents jours. Voilà pour ce qui est de la dessiccation lente. La dessiccation rapide de la substance nerveuse étalée en couche mince a pour conséquence l'inhibition du ferment protéolytique banal (Rage) ; l'inhibition des deux ferments, du ferment protéolytique banal et du ferment neurolytique spécial (Maladie d'Aujeszky). Par suite de cette inhibition, substance nerveuse rabique et substance nerveuse d'Aujeszky se trouvent ramenées au même point. Dès lors, elles se comportent de façon identique à l'égard de la dessiccation. D'où maintien de la virulence pendant un même laps de temps de soixante-quinze à cent jours.

*
* *

Quels sont les facteurs de réussite des expériences sur la conservation de la virulence des poudres de virus rabique ? Ce sont la rapidité avec laquelle la dessiccation est effectuée, la minceur de la couche de substance nerveuse étalée à la surface de la lame de verre et surtout, à notre avis, l'absence de toute trace d'humidité dans les ampoules où la poudre est conservée.

Pourquoi la rapidité est-elle un facteur de réussite ? Parce qu'elle ne laisse pas le temps d'agir à l'action destructrice que le ferment exerce sur la virulence. La différence d'action de la dessiccation lente et de la dessiccation rapide sur le virus rabique s'explique par un conflit entre le ferment qui atténue et la dessiccation qui conserve. Si on dessèche rapidement une émulsion de cerveau ou de moelle, le ferment n'a pas le temps d'agir et la dessiccation, c'est-à-dire l'action conservatrice, l'emporte. Si une moelle, au contraire, est desséchée lentement, l'action atténuante du ferment s'exerce à loisir et le virus se trouve détruit avant que la dessiccation n'ait eu le temps d'exercer son pouvoir conservateur. On conçoit ainsi que les meilleurs agents de conservation du virus rabique soient les agents physiques ou chimiques susceptibles de réaliser la dessiccation la plus rapide possible, c'est-à-dire susceptibles de s'opposer dans le minimum de temps à l'action du ferment protéolytique.

On conçoit aussi l'importance de la minceur de la couche de substance nerveuse à dessécher. Moins la couche est épaisse, plus la dessiccation est rapide et moins longue est

la période durant laquelle l'action destructrice du ferment a le temps de s'exercer. On comprend dans ces conditions que les meilleurs agents de conservation du virus rabique soient ceux, physiques (congélation associée à l'évaporation) ou chimiques (acide sulfurique, chaux, potasse, pentoxyde de phosphore) qui permettent de dessécher le virus rabique le plus vite possible, c'est-à-dire de s'opposer dans le minimum de temps à l'action destructrice du ferment.

A notre avis cependant, le facteur le plus important de la conservation de la virulence réside dans l'absence complète de trace d'humidité. On dit que les produits desséchés doivent être conservés à l'abri de l'air, mais l'air est un milieu complexe et il renferme, entre autres, des traces de vapeur d'eau. C'est de la présence ou de l'absence de cette eau que dépend, en majeure partie, l'issue des opérations. Bien que le fait ressorte des expériences d'un certain nombre d'auteurs, il ne semble pas avoir été démontré explicitement et il nous paraît intéressant d'attirer l'attention sur lui.

La poudre obtenue par dessiccation rapide, dans le vide, d'un cerveau de lapin mort de rage à virus de rue ou à virus fixe est conservée — pendant deux ou trois mois par exemple — sous une cloche en présence de chaux vive, c'est-à-dire à l'air, mais en l'absence de toute trace d'humidité. L'inoculation au lapin ayant montré que la virulence n'est en rien diminuée, la poudre est divisée en deux lots. Le premier est réparti en ampoules de verre de 2 cent. cubes de capacité (1 centigramme par ampoule). Le deuxième est distribué dans des petits tubes ouverts à raison, également, de 1 centigramme par tube. Ces tubes sont placés dans des ampoules de 20 cent. cubes renfermant chacune 1 gramme de chaux vive. Les ampoules ayant été scellées, les deux lots de poudre diffèrent simplement par l'absence de toute trace d'humidité dans un cas, par la présence de traces infinitésimales de vapeur d'eau dans l'autre. Ces traces infinitésimales sont apportées par les 2 centimètres cubes d'air qui ont été emprisonnés dans chaque ampoule. A des intervalles variables, il est prélevé un centigramme de poudre dans chacun des deux lots. Après émulsion dans l'eau physiologique, des inoculations sont faites sous la dure-mère du lapin. La poudre de

virus à l'abri de toute trace de vapeur d'eau, grâce à la présence de chaux vive, conserve sa virulence pendant des mois, si nombreux que nous n'avons pu encore en déterminer le plafond. Au contraire, la même poudre exposée aux traces de vapeur d'eau que peuvent contenir 2 cent. cubes d'air perd, après quelques semaines, tout pouvoir pathogène.

EXPÉRIENCE 4. — *Dessiccation d'un cerveau de lapin mort de virus de rue. Influence de traces infinitésimales de vapeur d'eau sur la conservation de la virulence.*

La poudre obtenue par dessiccation dans le vide d'un cerveau de lapin mort de rage à virus de rue (virus renforcé) a été conservée pendant soixante-dix-neuf jours sous une cloche en présence de chaux vive, c'est-à-dire à l'air, mais en l'absence de toute trace d'humidité. Sa virulence n'était en rien diminuée le soixante-dix-neuvième jour ainsi que l'ont prouvé les inoculations au lapin. A ce moment, cette poudre a été divisée en 2 lots. Le premier a été réparti en ampoules de verre stériles de 2 cent. cubes de capacité (1 centigramme par ampoule). Le deuxième lot a été réparti dans des petits tubes ouverts (1 centigramme par tube) qui sont placés dans des ampoules de 20 cent. cubes fermant chacun 1 gramme de chaux vive. Les ampoules ayant été scellées, les deux lots de poudre diffèrent simplement par l'absence de toute trace d'humidité dans un cas, par la présence de traces infinitésimales de vapeur d'eau dans l'autre. Ces traces infinitésimales sont apportées par les 2 cent. cubes d'air qui ont été emprisonnés dans chaque ampoule. A des intervalles variables, il est prélevé 1 centigramme de poudre dans chacun des deux lots d'ampoules et, après émulsion dans l'eau physiologique, des inoculations sont faites sous la dure-mère du lapin. Les résultats obtenus ont été consignés dans le tableau suivant :

DATE de l'expérience	NOMBRE DE JOURS pendant lesquels la poudre de virus a été conservée à l'abri de toute trace de vapeur d'eau en ampoules en présence de chaux vive	RÉSULTAT de l'inoculation au lapin (1 ou 2 lapins)	NOMBRE DE JOURS pendant lesquels la même poudre a été exposée aux traces de vapeurs d'eau que peuvent contenir 2 cent. cubes d'air	RÉSULTAT de l'inoculation au lapin (1 ou 2 lapins)
31 mai	107	+	28	+
30 juin	137	++	58	++
31 juillet . . .	168	++	89	— —
30 août	198	+	119	— —
30 septembre .	228	+		

EXPÉRIENCE 5. — *Dessiccation d'un cerveau de lapin mort de virus de rue. Influence de traces infinitésimales de vapeur d'eau sur la conservation de la virulence.*

Le cerveau d'un lapin ayant succombé à une rage à virus de rue

a été broyé en pulpe fine et soumis à une évaporation rapide et complète par exposition sous une cloche en présence d'une grande quantité de chaux vive. Par raclage, on a obtenu une poudre grise dont la virulence a été éprouvée le 26 avril sous la dure-mère du lapin. A cette date, la poudre est répartie en deux lots. Le premier est distribué en trois petits tubes ouverts placés dans des ampoules de 20 cent. cubes renfermant environ 2 grammes de chaux vive. Les ampoules sont scellées. Le deuxième lot est réparti en trois ampoules de 2 cent. cubes non pourvues de chaux et qui sont également scellées. Les deux lots diffèrent donc simplement par l'absence de toute trace d'humidité dans le premier cas (ampoules de 20 cent. cubes), par la présence dans le deuxième cas des traces infinitésimales de vapeur d'eau qui peuvent être contenues dans 2 cent. cubes d'air atmosphérique. Le 22 octobre (cent soixante-dix-neuvième jour), les poudres des deux lots sont prélevées, émulsionnées dans l'eau physiologique et inoculées sous la dure-mère du lapin. Le lapin inoculé avec la poudre de virus desséché conservée à l'abri de toute trace d'humidité a présenté les premiers symptômes de la rage le 28 (sixième jour) et est mort le 30. Le lapin inoculé avec la poudre de virus soumise aux traces infinitésimales de vapeur d'eau qui peuvent exister dans un volume d'air de 2 cent. cubes est demeuré vivant et bien portant.

EXPÉRIENCE 6. — *Dessiccation d'un cerveau de lapin mort du virus de rue. Influence de traces infinitésimales de vapeur d'eau sur la conservation de la virulence.*

Le 22 mai, un cerveau de lapin mort de virus de rue est broyé en pulpe fine et soumis à une évaporation rapide et complète par exposition sous cloche en présence d'une grande quantité de chaux vive. Par raclage, on obtient une poudre grise, anhydre, qui est divisée en deux lots. Le premier est réparti en 12 petits tubes ouverts qui sont placés dans des ampoules de 20 cent. cubes renfermant environ 2 grammes de chaux vive. Les ampoules sont scellées. Le deuxième lot est réparti en 12 ampoules de 2 cent. cubes non pourvues de chaux qui sont également scellées. Les deux lots diffèrent donc simplement par l'absence de toute trace d'humidité dans le premier cas (ampoules de 20 cent. cubes), par la présence dans le deuxième cas des traces infinitésimales de vapeur d'eau qui peuvent être contenues dans 2 cent. cubes d'air atmosphérique. Le 30 septembre (cent trente-troisième jour) 4 lapins sont inoculés sous la dure-mère, 2 avec la poudre soumise depuis cent trente-trois jours aux traces infinitésimales de vapeur d'eau qui peuvent exister dans 2 cent. cubes d'air ; 2 avec la poudre desséchée conservée à l'abri de toute trace d'humidité. Les premiers sont demeurés vivants et bien portants. Les seconds ont présenté, le 4 octobre, les premiers symptômes d'une rage paralytique à laquelle ils ont succombé le 7. La poudre privée de vapeur d'eau a été par la suite expertisée périodiquement. Le 29 février (deux cent quatre-vingt-cinquième jour), elle ne manifestait pas encore la moindre trace d'atténuation de la virulence.

Le virus fixe se comporte comme le virus de rue :

EXPÉRIENCE 7. — *Dessiccation d'un cerveau de lapin mort du virus*

fixe. Influence de traces infinitésimales de vapeur d'eau sur la conservation de la virulence.

Le 3 novembre, la poudre obtenue avec un cerveau de lapin mort du virus fixe est répartie en deux lots :

Premier lot : ampoules scellées de 2 cent. cubes de capacité renfermant chacune 1 centigramme de poudre.

Deuxième lot : la poudre est répartie à raison de 1 centigramme par tube dans de petits tubes ouverts, placés dans des ampoules scellées de 20 cent. cubes renfermant chacune 1 gramme de chaux vive.

Les deux lots diffèrent simplement par l'absence de toute trace d'humidité dans un cas, par la présence de traces infinitésimales de vapeur d'eau dans l'autre, traces infinitésimales apportées par les 2 cent. cubes d'air emprisonnés dans chaque ampoule.

Périodiquement, les deux poudres sont inoculées sous la dure-mère du lapin.

Les lapins inoculés à partir du 20 novembre (dix-septième jour), avec la poudre soumise pendant quinze jours aux traces infinitésimales de vapeur d'eau qui peuvent exister dans 2 cent. cubes d'air, demeurent vivants et bien portants tandis que ceux qui ont été inoculés avec la poudre conservée à l'abri de toute trace d'humidité contractent la rage dans les délais normaux. Le 28 février (cent quinzième jour), la poudre n'avait encore rien perdu de sa virulence et il est probable que le plafond est loin d'être atteint.

Il semble ainsi que non seulement la présence de vapeur d'eau peut entraver la conservation de la virulence mais encore qu'une humidité très minime est susceptible de produire l'échec des expériences. La suppression de la vapeur d'eau peut être réalisée à l'aide de procédés simples et économiques. Il paraît donc inutile de conserver le virus rabique dans des récipients privés de toute trace d'oxygène par lavage à l'azote, où le vide absolu a été réalisé, etc., etc.

Il reste à se demander quelle relation peut exister entre l'humidité et la perte de virulence de la substance nerveuse rabique réduite en poudre. Ainsi que nous l'avons établi, la perte de virulence des moelles rabiques n'est pas, ainsi qu'il est classique, la conséquence d'une action combinée de la température, de l'oxygène de l'air et de la dessiccation. Elle est due au ferment autochtone qui se trouve dans le tissu nerveux comme dans les muscles et dans tous les tissus en général. Comme pour tous les ferments, la présence de l'eau est la première condition de son activité. La déshydratation de la poudre rabique, sa conservation en présence d'un corps — tel que la chaux — absorbant la vapeur d'eau, mettent le

virus à l'abri de la protéolyse. Au contraire, la restitution d'une trace d'humidité rend son activité à la diastase et celle-ci, dès lors, ne tarde pas à détruire le virus.

A ce que la dessiccation se comporte à l'égard du virus rabique comme un facteur non pas d'atténuation mais de conservation, il ne doit pas y avoir matière à surprise. Ne sait-on pas depuis longtemps qu'un très grand nombre de bactéries, de virus, de sérum, que beaucoup d'autres produits biologiques encore, demeurent actifs à l'état sec pendant de longues périodes ? Congelés et desséchés, même des germes très fragiles comme le méningocoque et le gonocoque ont pu être conservés dans le vide pendant des années. M. Laigret et M^{me} Auburtin ont montré tout récemment que le vibrion cholérique ne se comportait pas de façon différente et que, réduit en poudre sèche, il conservait pendant cinq semaines au moins toute sa vitalité. Il y a là une loi générale. Pourquoi le virus rabique constituerait-il une exception ?

*
* *

Ainsi que nous l'avons rappelé en commençant, les travaux de l'Institut Pasteur de Tanger ont montré que le virus rabique était aujourd'hui beaucoup plus sensible à la dessiccation que dans les premiers temps de la méthode pasteurienne. Le fait a été, par la suite, confirmé par de nombreux auteurs, par M. P. Lépine en particulier (5). Il conserve toute sa valeur mais il paraît justiciable d'une interprétation quelque peu différente de celle qui avait été fournie tout d'abord. C'est moins la dessiccation que le ferment protéolytique qui atténue la virulence des moelles sur lesquelles ont porté les expériences. Il s'ensuit que c'est moins à la dessiccation qu'au dit ferment que, par suite des passages de lapin à lapin, le virus est devenu plus sensible.

Nous avons montré aussi, qu'une fois desséché en couche mince, le virus rabique, si sensible à la chaleur, était capable

(5) LÉPINE (P.), CRUVEILHIER (L.) et M^{lle} SAUTTER (V.). Recherches sur la virulence des moelles rabiques en relation avec l'état actuel du virus fixe de l'Institut Pasteur. Ces *Annales*, 25 octobre 1935 (numéro commémoratif de la Rage), p. 127.

de supporter des températures extrêmement élevées : 103°, 105, 110 même. Il nous suffira de signaler d'un mot que cette forte résistance est bien peu en faveur de la théorie protozoairienne de l'agent pathogène de la Rage. De même, Shackell (6) puis Swiff d'une part, Elser, Thomas et Steffen (7) d'autre part, qui ont longuement étudié la dessiccation des microbes pathogènes ont établi que les espèces bactériennes les plus fragiles comme le Pneumocoque, le Méningocoque, le Gonocoque gardaient à l'état sec toutes leurs propriétés au cours de longues années alors que, dans les mêmes conditions, les Protozoaires et les Spirochètes étaient rapidement détruits. Or, cette dessiccation, le virus rabique, ainsi que nous venons de le voir, la supporte très bien. Il y a là un ensemble de faits qui éloigne le virus des Protozoaires et le rapproche des composés chimiques. Il pourrait être une protéine virulente ainsi que l'hypothèse en avait été, à un moment, avancée par Pasteur lui-même.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1° C'est beaucoup moins l'expérience complexe de Pasteur (dessiccation lente des moelles en flacons de Mariotte, en présence de la potasse) que celle très simple de Vansteenberghe (dessiccation rapide de la pulpe nerveuse étalée en couche mince à la surface d'une lame de verre) qui traduit l'action de la dessiccation sur le virus rabique.

2° Dans les flacons de Mariotte de la méthode pasteurienne classique, ce n'est pas la dessiccation qui atténue le virus rabique mais l'autolyse qui préside à la maturation des moelles comme, dans la nature, elle préside à la maturation des viandes. L'atténuation est en rapport avec le degré de liberté laissé à l'action du ferment, action qui, pour s'exercer, a besoin d'un peu d'humidité ;

3° Les conditions de réussite de l'expérience de Vansteenberghe sont la rapidité de la dessiccation, la minceur de la

(6) SHACKELL. Une nouvelle méthode de dessiccation avec applications aux problèmes biologiques. *Amer. Journ. of Physiol.*, **24**, 1909, p. 325.

(7) ELSE, THOMAS et STEFFEN. La dessiccation du sérum et autres produits biologiques, compris les micro-organismes avec conservation des qualités originales des produits. *Journ. of Imm.*, **28**, 1935, p. 433.

couche de substance nerveuse à dessécher et surtout, l'absence complète d'humidité. Des traces minimales de vapeur d'eau suffisent à faire perdre rapidement à la poudre desséchée toute virulence ;

4° Une preuve de ce que ce n'est pas la dessiccation mais un ferment protéolytique qui atténue la virulence des moelles rabiques est fournie par la comparaison de l'action des dessiccations lente et rapide à l'égard des virus rabique et d'Aujeszky. Par suite d'un antagonisme entre deux ferments, le virus d'Aujeszky est cinquante fois plus résistant que le virus de la Rage à la dessiccation lente. Il se comporte absolument comme lui à l'égard de la dessiccation rapide qui, en très peu de temps, inhibe tous les ferments ;

5° La dessiccation n'est pas un facteur d'atténuation mais bien de conservation du virus rabique fixe ou de rue, de même qu'elle est un facteur de conservation d'un grand nombre d'anticorps et d'antigènes ;

6° Il a été établi que, par suite de ses passages de lapin à lapin, le virus rabique était, aujourd'hui, plus sensible à la dessiccation qu'il ne l'était au début de la méthode pasteurienne. En réalité, c'est à l'action des ferments protéolytiques que le virus est devenu plus sensible ;

7° Le virus rabique desséché en couche mince conserve sa virulence intacte pendant des mois et acquiert la propriété de résister à des températures supérieures à 100°. Le fait n'est pas en faveur de sa nature protozoairienne mais plaide plutôt pour sa nature chimique (protéine virulente), ainsi que l'hypothèse en avait été émise, à un moment, par Pasteur lui-même.

VACCINATION MIXTE CONTRE LA FIÈVRE JAUNE ET LA VARIOLE SUR DES POPULATIONS INDIGÈNES DU SÉNÉGAL

par M. PELTIER, C. DURIEUX, H. JONCHÈRE et E. ARQUIÉ.

(Institut Pasteur de Dakar.)

Dans une note préliminaire (1), nous avons montré que le virus amaril neurotrope, entretenu sur l'encéphale de la souris blanche, peut pénétrer, à la faveur de légères scarifications cutanées, dans l'organisme de l'homme et des animaux réceptifs, s'y multiplier et provoquer l'apparition d'anticorps contre la fièvre jaune dans les mêmes conditions qu'après l'inoculation du virus par voie sous-cutanée.

Nous avons également fait connaître que cette propriété permettait de vacciner, dans un seul temps, à la fois contre la fièvre jaune et la variole, en associant le virus amaril au virus vaccinal. Les deux immunités provoquées par cette vaccination mixte s'installent simultanément chez les sujets sensibles aux deux virus ; dans le cas où l'une d'entre elles existe déjà, l'autre se développe isolément.

Nos premiers essais chez l'homme, commencés en novembre 1938, et poursuivis les mois suivants sur plusieurs centaines de sujets de race noire appartenant à des collectivités de surveillance facile (marine de Dakar, écoles de Dakar et de Rufisque), nous avaient permis d'obtenir une proportion de 90 p. 100 de tests de séro-protection positifs et de 81 p. 100 de porteurs de pustules vaccinales. Aucune réaction générale vive n'avait été signalée.

En présence de ces résultats, nous avons demandé à faire

(1) PELTIER (M.), DURIEUX (C.), JONCHÈRE (H.) et ARQUIÉ (E.). Pénétration du virus amaril neurotrope par voie cutanée. Vaccination mixte contre la fièvre jaune et la variole. *Bull. Acad. Méd.*, **121**, n° 17, 9 mai, p. 657.

porter notre expérimentation sur un champ d'étendue beaucoup plus vaste. Un projet envisageant la vaccination de 100.000 indigènes du Sénégal fut soumis au Gouvernement Général de l'A.O.F. qui, d'accord avec le ministère des Colonies, lui donna son entière approbation.

I. — CAMPAGNE DE VACCINATIONS.

A. PLAN DE CAMPAGNE. — Nous avons été guidés, dans le choix des régions à vacciner, par les mobiles suivants :

1° Exercer un contrôle précis sur les suites de la vaccination antiamarile ;

2° Immuniser un grand nombre de sujets directement menacés par la fièvre jaune.

Pour pouvoir exercer, dans les meilleures conditions, le contrôle des suites de la vaccination antiamarile, il était indispensable de s'adresser à des populations très peu touchées par le typhus amaril. En effet, l'absence de cas de fièvre jaune depuis de longues années devait nous permettre d'attribuer l'immunité acquise par ces populations aux vaccinations pratiquées par nos soins, et non à l'intervention d'un virus circulant dans la nature. Le contrôle de l'efficacité de la vaccination était également rendu plus facile en raison du nombre très restreint de sujets déjà immunisés naturellement. Enfin, nous désirions apporter un nouvel argument contre l'allégation faite par certains, que l'usage du vaccin antiamaril préparé avec le virus neurotrope peut provoquer l'apparition de la fièvre jaune chez les vaccinés ou dans leur entourage. Des cas de typhus amaril, se déclarant peu après la vaccination, pouvaient en effet être imputés avec raison à cette vaccination, puisque le virus amaril n'existait pas dans les régions visitées.

D'un autre côté, nous avons estimé que nous ne devions pas rester exclusivement sur le terrain expérimental, et que les résultats déjà acquis étaient suffisamment éloquentes pour nous inciter à tenter un vaste essai de prophylaxie, en portant également nos efforts dans des régions où la fièvre jaune constitue un danger permanent.

Pour ces diverses raisons, nous avons décidé de diviser

notre programme en deux parties. Les premières opérations, destinées plus particulièrement à contrôler les effets de la vaccination, se dérouleraient dans la zone nord de la colonie, limitrophe du fleuve Sénégal (Saint-Louis, cercles de Podor et de Matam), dans laquelle la fièvre jaune ne s'était pas manifestée depuis de longues années. Une deuxième série de vaccinations serait ensuite effectuée dans certaines régions du sud (cercle de Kaolack, subdivision de M'Bour) où le typhus amaril sévit à l'état endémique, les derniers cas déclarés remontant à 1937.

Dans chaque localité visitée, les opérations devaient se dérouler dans l'ordre suivant :

1° Premières prises de sang aux élèves des écoles en vue d'un test de séro-protection préliminaire ;

2° Vaccination mixte des écoliers et de la population ;

3° Contrôle des vaccinations varioliques huit à dix jours après ;

4° Deuxièmes prises de sang effectuées après un délai de deux mois environ, pour le contrôle de la vaccination anti-amarile.

Afin que ces diverses opérations puissent s'effectuer avec ordre et rapidité, des instructions furent adressées, par l'intermédiaire du Gouverneur du Sénégal, aux autorités locales. Ces instructions précisaient que les rassemblements devraient se faire sous le contrôle effectif des administrateurs des cercles intéressés, que les services d'Assistance médicale indigène apporteraient leur concours en participant aux vaccinations, enfin que les directeurs d'écoles dresseraient des listes nominatives de leurs élèves afin de s'assurer de l'identité des sujets sur lesquels porterait le contrôle de la vaccination.

B. OPÉRATIONS DE VACCINATIONS. — Les opérations se déroulèrent au cours de trois périodes :

Du 4 au 20 mai 1939 sur le fleuve ;

Du 9 au 24 juin 1939 dans le cercle de Kaolack ;

Du 17 au 19 juillet 1939 dans la circonscription de M'Bour.

Le personnel de l'Institut Pasteur de Dakar, détaché pour les diriger, comprenait deux médecins auxquels étaient

adjoins un secrétaire dactylographe et deux préparateurs indigènes. Les médecins des cercles visités participèrent aux

TABLEAU I. — Vaccinations dans le cercle de Podor.

DATES	LOCALITÉS	VACCIN antivaricelle utilisé	VACCIN antiamaril utilisé	NOMBRE de sujets vaccinés	NOMBRE de sérum prélevés
4 mai 1939	Podor (école).	Plotz.	A 2	252	120
5 mai 1939	Podor (village).	Plotz.	A 1-2	1.205	
6 mai 1939	Guédé.	Plotz.	A 1	122	
6 mai 1939	N'Dioum (école).	Plotz.	A 1	70	40
6 mai 1939	N'Dioum (village).	Plotz.	A 1	193	
6 mai 1939	Démotte.	Plotz.	A 1	254	40
7 mai 1939	Cascas (école).	Plotz.	A 1	94	
7 mai 1939	Cascas (village).	Plotz.	A 1	613	
7 mai 1939	Saldé (école).	Plotz.	A 1	102	40
7 mai 1939	Saldé (village).	Plotz.	A 1	792	
8 mai 1939	Caloya.	Plotz.	A 1-2	453	
Totaux				4.150	240

TABLEAU II. — Vaccinations mixtes dans le cercle de Matam.

DATES	LOCALITÉS	VACCIN antivaricelle utilisé	VACCIN antiamaril utilisé	NOMBRE de sujets vaccinés	NOMBRE de sérum prélevés
8 mai 1939	Oréfondé.	Plotz.	A 1-2-4	2.560	40
9 mai 1939	Agnam-Civol.	Plotz.	A 3-4-7	2.842	
9 mai 1939	Thilogne (école).	Plotz.	A 7	68	
9 mai 1939	Thilogne (village).	Plotz.	A 6-7	1.360	
10 mai 1939	Thilogne (village).	Plotz.	A 2-5-6-10	3.422	120
11 mai 1939	Bokidiavé.	Plotz.	A 7-8-10-11	4.953	
12 mai 1939	Bokidiavé.	Plotz.	A 10-11	1.354	
12 mai 1939	Matam (école).	Plotz.	A 2-10	152	
13 mai 1939	Matam (village).	Plotz.	A 5-6-7-10	1.813	40
13 mai 1939	Ourossoguy.	Plotz.	A 2-3-4-5-7-8-10-11	2.184	
14 mai 1939	Ourossoguy.	Plotz.	A 15	1.700	
14 mai 1939	Kanel (école).	Plotz.	A 15	86	
14 mai 1939	Kanel (village).	Plotz.	A 14-15	1.811	200
15 mai 1939	Kanel (village).	Plotz.	A 14	2.628	
15 mai 1939	Sinthiou-Bamambé.	Plotz.	A 13-14-15	2.533	
16 mai 1939	Amady-Ounaré.	Plotz.	A 12-13	4.175	
16 mai 1939	Orkadiaré.	Plotz.	A 16-17	1.594	
16 mai 1939	Aouré.	Plotz.	A 16	2.684	
Totaux				37.919	200

vaccinations ainsi que des infirmiers de l'Assistance médicale indigène.

Les vaccins utilisés furent les suivants :

1° Vaccin antiamaril préparé à l'Institut Pasteur de Dakar

TABLEAU III. — Vaccinations mixtes dans les écoles de Saint-Louis.

DATES	LOCALITÉS	VACCIN antivaricelleux utilisé	VACCIN anti-amaril utilisé	NOMBRE de sujets vaccinés	NOMBRE de sérum prélevés
20 mai 1939	Ecole Blanchot.	Plotz.	A 20	120	40
20 mai 1939	Ecole Duval.	Plotz.	A 20	97	80
20 mai 1939	Ecole Brière de l'Isle.	Plotz.	A 20	681	80
Totaux				898	200

TABLEAU IV. — Vaccinations mixtes dans la subdivision de Kaolack.

DATES	LOCALITÉS	VACCIN antivaricelleux utilisé	VACCIN anti-amaril utilisé	NOMBRE de sujets vaccinés	NOMBRE de sérum prélevés
9 juin 1939.	Kaolack (écoles).	Plotz.	A 30-31	655	200
9 juin 1939.	Kaolack (village).	Plotz.	A 30-31	1.560	
10 juin 1939.	Kaolack (village).	Plotz.	A 30	3.072	70
11 juin 1939.	Kaolack (marché).	Plotz.	A 28-29-30	2.510	
12 juin 1939.	Gossas (école).	Plotz.	A 32	68	70
12 juin 1939.	Gossas (village).	Plotz.	A 28-32	2.955	
13 juin 1939.	Gandiaye (école).	Inst. de Vaccine.	A 26	77	40
13 juin 1939.	Gandiaye (village).	Inst. de Vaccine.	A 26-28	3.646	
14 juin 1939.	Thiavando.	Plotz.	A 28-31-32	3.050	40
14 juin 1939.	N'Dofane.	Plotz.	A 28-33	1.420	
15 juin 1939.	Nioro du Rip (école).	Plotz.	A 33	46	40
15 juin 1939.	Nioro du Rip (village).	Plotz.	A 32-33	2.066	
15 juin 1939.	Saboya.	Plotz.	A 32	1.475	40
16 juin 1939.	Guinguiné (école).	Plotz.	A 33	48	
16 juin 1939.	Guinguiné (village).	Plotz.	A-33-34	3.940	
Totaux				26.588	420

avec des cerveaux de souris paralysées. Ce vaccin est desséché et conservé en ampoules privées d'air ;

2° Vaccin antivaricelleux préparé par H. Plotz, à l'Institut Pasteur de Paris, avec des cultures de virus vaccinal sur tissus, cultures desséchées et mises en ampoules sous le vide ;

3° Vaccin antivariolique de génisse (cultures titrées et deséchées de virus vaccinal) préparé depuis peu par l'Institut de Vaccine de la rue Ballu, à Paris.

Le vaccin antiamaril fut constamment maintenu à basse température, au contact de la glace, dans des récipients isolateurs, jusqu'au moment de son utilisation.

Au cours des vaccinations sur le fleuve, le vaccin antivariolique de H. Plotz subit la température élevée qui régnait alors dans cette région. On se contenta de le garder à l'obscurité

TABLEAU V. — Vaccinations dans les subdivisions de Fatick et de Foundiougne.

DATES	LOCALITÉS	VACCIN antivariolique utilisé	VACCIN antiamaril utilisé	NOMBRE de sujets vaccinés	NOMBRE de séums prélevés
19 juin 1939 . .	Niakhar (école).	Plotz.	A 36	57	40
19 juin 1939 . .	Niakhar (village).	Plotz.	A 35-36	4 336	
20 juin 1939 . .	Toukhar.	Plotz.	A 35-36-37-38-39	5 236	200
20 juin 1939 . .	N'Diohine.	Plotz.	A 39	1 208	
21 juin 1939 . .	Fatick (école).	Plotz.	A 40	300	
21 juin 1939 . .	Fatick (village).	Plotz.		4 115	
22 juin 1939 . .	Diakhao.	Plotz.	A 39-40-41	4 004	
23 juin 1939 . .	Diakhao.	Plotz.	A 40-41-42-43	4 056	
24 juin 1939 . .	Foundiougne (école).	Plotz.	A 42	195	194
Totaux				23.507	434

et enveloppé dans des linges imbibés d'eau. Par la suite, l'Institut Pasteur de Dakar ayant fait l'acquisition d'un camion-laboratoire muni d'un appareil frigorifique fonctionnant au pétrole, ce vaccin fut conservé à une température inférieure à + 10°C.

Aucune précaution spéciale ne fut prise pour la conservation du vaccin antivariolique de l'Institut de Vaccine ; son emploi fut d'ailleurs assez limité, en raison des faibles quantités dont nous disposions.

Voici la disposition de travail qui fut adoptée pour chaque séance de vaccination :

Une fois terminée, parmi les élèves des écoles, la récolte des échantillons de sang destinés à établir la proportion de

sujets immunisés contre le typhus amaril avant vaccination, trois tables pliantes étaient disposées soit en plein air, à l'ombre d'un arbre ou d'un abri en tiges de mil rapidement construit par les habitants du village, soit dans un local mieux protégé des rayons solaires (dispensaire, école, marché) dans les localités plus importantes. A l'une des tables, un travailleur de l'Institut Pasteur se consacrait uniquement à la préparation des suspensions vaccinales, tandis que deux équipes de trois vaccinateurs, installées aux deux autres tables, procédaient aux inoculations. Les suspensions vaccinales conte-

TABLEAU VI. — Vaccinations mixtes dans la subdivision de M'Bour.

DATES	LOCALITÉS	VACCIN antivariolique utilisé	VACCIN antiamaril utilisé	NOMBRE de sujets vaccinés	NOMBRE de sérum prélevés
17 juillet 1939.	Fadiouth (école).	Inst. de Vaccine.	A 43	75	40
17 juillet 1939.	Fadiouth (village).	Inst. de Vaccine.	A 43	632	
17 juillet 1939.	Joal (école).	Inst. de Vaccine.	A 43	100	40
17 juillet 1939.	Joal (village).	Inst. de Vaccine.	A 42-43	820	
18 juillet 1939.	Diarogne.	Inst. de Vaccine.	A 42	580	
18 juillet 1939.	Dianda.	Inst. de Vaccine.	A 42	452	
18 juillet 1939.	N'Dofane.	Inst. de Vaccine.	A 42	163	
18 juillet 1939.	N'Guéniène.	Inst. de Vaccine.	A 42-44	954	
19 juillet 1939.	Foua.	Inst. de Vaccine.	A 44	276	
19 juillet 1939.	N'Diamane.	Inst. de Vaccine.	A 41	118	
Totaux				4 470	80

nant chacune 100 doses de vaccin mixte, étaient recueillies dans des verres de montre et transportées sur les tables des vaccinateurs qui avaient à leur disposition plusieurs milliers de vaccinostyles. Le temps nécessaire pour préparer deux suspensions vaccinales de 100 doses correspondait approximativement à celui qu'il fallait à chaque équipe pour vacciner 100 sujets. Les vaccinateurs étaient donc constamment ravitaillés en vaccin et les opérations se déroulaient sans interruption.

On trouvera, dans les tableaux I à VI, le relevé des vaccinations effectuées dont le total se monte à 98.873.

Dans le tableau suivant sont énumérées les opérations de

vaccination pratiquées à la fin de 1938 et dans le courant de l'année 1939 dans la circonscription de Dakar et dépendances. Ces opérations avaient eu pour but d'étudier les effets obtenus avec divers modes de préparation du vaccin mixte, et de fixer la technique à adopter définitivement.

TABLEAU VII. — Vaccinations mixtes
dans la circonscription de Dakar et dépendances.

DATES	GROUPES OU LOCALITÉS	VACCIN antivaricelleux utilisé	VACCIN anti-malarial utilisé	NOMBRE de sujets vaccinés	NOMBRE de sérum prélevés
16 novembre 1938. .	Marine Dakar.	Plotz.	P. Cerv. n° 6.	66	62
9 janvier 1939 . . .	Ecole rue de Thiong, Dakar.	Plotz.	P. Cerv. n° 6.	33	33
10 janvier 1939 . . .	Ecole avenue Sarraut.	Plotz.	P. Cerv. n° 6.	44	44
11 janvier 1939 . . .	Ecole garçons Rufisque.	Plotz.	P. Cerv. n° 6.	31	31
25 janvier 1939 . . .	Marine Dakar.	Plotz.	V. filtré n° 1.	30	30
25 janvier 1939 . . .	Marine Dakar.	Plotz.	P. Cerv. n° 6.	34	33
28 janvier 1939 . . .	Ecole filles Rufisque.	Plotz.	V. filtré n° 1.	47	43
3 février 1939 . . .	Boulème (1).	Plotz.	V. filtré n° 1.	94	47
4 février 1939 . . .	Ecole garçons Rufisque.	Plotz.	V. filtré n° 1.	50	44
28 mars 1939 . . .	Sébithioko.	Plotz.	P. Cerv. n° 8.	106	41
1 ^{er} avril 1939 . . .	Dougar.	Plotz.	P. Cerv. n° 8.	160	45
19 avril 1939 . . .	Marine Dakar.	Inst. de Vaccine.	ASC 1 bis.	28	27
27 mai 1939. . . .	Bargny-Minam.	Inst. de Vaccine.	A 21.	34	15
27 mai 1939. . . .	Bargny-Sindou.	Inst. de Vaccine.	A 21.	46	31
2 juin 1939	Carrière Sébikotane.	Plotz.	A 21.	270	
2 juin 1939	Ecole Sébikotane (manœuvres).	Plotz.	A 21.	71	
12 juillet 1939 . . .	Déni-Niayes.	Inst. de Vaccine.	A 44.	101	20
12 juillet 1939 . . .	Déni-Biram N'Daw.	Plotz.	A 44.	96	20
Totaux				1.341	566

(1) Village de la subdivision de M'Bour.

Le tableau ci-dessous, qui résume les précédents, donne le relevé de toutes les vaccinations mixtes effectuées au Sénégal.

Toutes ces opérations n'ont pu se faire avec ordre et selon un horaire bien établi que grâce au concours effectif des administrateurs qui ont présidé eux-mêmes aux rassemblements. Il a fallu, en effet, grouper dans un certain nombre de centres, des populations très dispersées. La collaboration étroite du Service de Santé et de l'Administration a donné, là encore, les excellents résultats qu'elle donne toujours.

Mais ce qu'il importe de souligner plus particulièrement,

TABLEAU VIII. — **Récapitulation des vaccinations mixtes effectuées au Sénégal.**

RÉGIONS	NOMBRE de sujets vaccinés	NOMBRE de sérum prélevés avant vaccination
Cercle de Podor	4 450	240
Cercle de Matam	37.919	200
Saint-Louis	898	200
Subdivision de Kaolack	26.588	420
Subdivisions de Fatick et Foundiougne	23.507	434
Subdivision de M'Bour	4.470	80
Circonscription de Dakar et dépendances	1.341	566
Totaux	98 873	2.140

c'est l'empressement manifeste avec lequel les populations se sont rendues aux séances de vaccinations. Les chefs de canton indigènes, qui avaient été prévenus du double but de la vaccination, ont largement payé de leur personne pour assurer le succès des rassemblements et ils ont tenu à se faire vacciner les premiers, eux et leur famille.

Notre campagne de vaccination a été ainsi grandement facilitée. L'aide précieuse qui nous a été accordée par l'Administration nous a permis de pratiquer un nombre considérable de vaccinations dans un temps relativement court puisque, certains jours, nous avons pu dépasser le chiffre de 5.000 vaccinés comprenant des sujets des deux sexes et de tout âge, depuis le nourrisson jusqu'au vieillard.

C. SUITES DES VACCINATIONS. — Nous savions déjà que l'indigène d'Afrique occidentale supporte parfaitement le virus amaril neurotrope administré par voie sous-cutanée. Les réactions vaccinales sont exceptionnelles chez lui, et, lorsqu'elles se produisent, elles sont toujours insignifiantes. Cette notion a été confirmée à la suite de la campagne de vaccinations effectuées au Sénégal. Aucun incident n'a été signalé au cours de la période qui a suivi l'application en grand de la vaccination mixte par scarification. Les quelques poussées fébriles constatées chez un certain nombre de petits enfants n'ont pas dif-

fééré de celles qui accompagnent parfois l'évolution des pustules vaccinales.

Nous devons insister sur le fait que, depuis l'époque où les opérations précédentes ont été effectuées, aucun cas suspect de fièvre jaune n'a été relevé dans les régions visitées ni parmi les vaccinés, ni parmi leur entourage. Le virus amaril neurotrope inoculé à près de 100.000 sujets n'a donc, dans aucun cas, retrouvé ses propriétés pantropes. Malgré l'abondance des stégomyies dans les zones parcourues et malgré les nombreux repas de sang que ces insectes ont certainement faits sur la multitude de vaccinés véhiculant simultanément du virus dans leur circulation périphérique, aucun cas de typhus amaril n'a été constaté chez des sujets non vaccinés. Notre campagne de vaccination constitue, à ce point de vue, une expérience d'une valeur indiscutable qui permet de trancher définitivement le débat sur la question de la transmission possible, par piqûre de stégomyies, du virus amaril neurotrope présent dans le sang des personnes récemment vaccinées.

II. — CONTROLE DES VACCINATIONS.

Le contrôle des vaccinations a été pratiqué de façon à connaître, d'une façon précise, l'efficacité de chacun des deux vaccins inoculés simultanément.

A. CONTROLE DE LA VACCINATION ANTIVARIOLIQUE. — Une tournée de contrôle a été effectuée environ dix jours après les vaccinations par les médecins des cercles intéressés. Elle a permis d'établir la proportion d'individus porteurs de pustules vaccinales suivant qu'il s'agissait de primo-vaccinés ou de revaccinés.

Le nombre des sujets contrôlés a été, de beaucoup, inférieur à celui des vaccinés en raison de l'éparpillement des populations qui, au moment des vaccinations, avaient été rassemblées dans les villages les plus importants. Si l'indigène est parvenu à apprécier les bénéfices qu'il retire de la vaccination et se prête volontiers à celle-ci, il comprend difficilement les raisons d'un contrôle et se soucie peu d'assister aux séances organisées dans ce but. Cependant les chiffres rele-

TABLEAU IX. — Contrôle des vaccinations antivarioliques dans le cercle de Podor.

LOCALITÉS	VACCIN UTILISÉ	NOMBRE de sujets vaccinés	SUJETS CONTRÔLÉS					
			Primovaccinés			Revaccinés		
			Nombre de sujets contrôlés	Positifs		Nombre de sujets contrôlés	Positifs	
				Nombre	P. 100		Nombre	P. 100
Podor (école)	Plotz.	252				252	0	0
N'Dioum (école). . .	Plotz.	70				70	0	0
Cascas (école). . . .	Plotz.	91				94	2	2,1
Saldé (école)	Plotz.	102				102	0	0
Villages divers	Plotz.	3.632	1.600	240	15,0	1.579	158	10,0
Totaux		4.150	1.600	240	15,0	2.097	160	7,6

TABLEAU X. — Contrôle des vaccinations antivarioliques dans le cercle de Matam.

LOCALITÉS	VACCIN UTILISÉ	NOMBRE de sujets vaccinés	SUJETS CONTRÔLÉS					
			Primovaccinés			Revaccinés		
			Nombre de sujets contrôlés	Positifs		Nombre de sujets contrôlés	Positifs	
				Nombre	P. 100		Nombre	P. 100
Oréfondé	Plotz.	2.560	83	9	10,8	607	11	1,6
Agnam-Civol	Plotz.	2.842	291	47	16,1	674	28	4,1
Thilogne (école). . .	Plotz.	68				44	0	0
Thilogne (village). .	Plotz.	4.782	104	15	14,4	1.093	31	2,8
Bokidiavé	Plotz.	6.307	99	18	18,1	413	23	5,5
Matam (école). . . .	Plotz.	452				105	0	0
Matam (village). . .	Plotz.	1.813	35	18	51,4	517	26	5,0
Ourosoguy	Plotz.	3.884	42	19	45,2	339	29	8,5
Kanel (école). . . .	Plotz.	86				60	1	1,6
Kanel (village). . .	Plotz.	4.439	20	10	50,0	668	18	2,6
Sinthiou-Bamambé .	Plotz.	2.533	123	33	26,8	692	84	12,1
Amady-Ounaré . . .	Plotz.	4.175	155	43	27,7	1.063	66	6,2
Orkadiaré	Plotz.	1.594	188	78	41,1	569	27	4,7
Aouré.	Plotz.	2.684	69	41	63,7	1.002	117	11,6
Totaux		37.919	1.209	334	27,6	7.846	461	5,8

VACCINATION CONTRE LA FIÈVRE JAUNE ET LA VARIOLE 157

TABLEAU XI. — Contrôle des vaccinations antivarioliques dans la subdivision de Kaolack.

LOCALITÉS	VACCIN UTILISÉ	NOMBRE de sujets vaccinés	SUJETS CONTRÔLÉS					
			Primovaccinés			Revaccinés		
			Nombre de sujets contrôlés	Positifs		Nombre de sujets contrôlés	Positifs	
				Nombre	p. 100		Nombre	p. 100
Kaolack (école)	Plotz.	635	20	18	90,0	602	120	19,9
Kaolack (village)	Plotz.	7.142	451	140	92,7	770	170	22,0
Gossas (école)	Plotz.	68	1	1		66	1	1,5
Gossas (village)	Plotz.	2.953	111	133	94,3	358	52	14,5
Gandiaye (école)	Inst. de Vaccine.	77	1	1		76	9	11,8
Gandiaye (village)	Inst. de Vaccine.	3.616	223	223	100	391	183	46,8
Thiavando	Plotz.	3.050	120	110	91,6	254	23	9,0
N'Dofane	Plotz.	1.420	61	54	88,5	128	11	8,6
Nioro-du-Rip (école)	Plotz.	46				40	4	2,5
Nioro-du-Rip (village)	Plotz.	2.066	61	57	89,0	238	17	7,1
Saboya	Plotz.	1.173	96	89	92,7	155	14	9,0
Guinguinéo (école)	Plotz.	48	1	1		45	8	17,7
Guinguinéo (village)	Plotz.	3.910	78	73	93,6	194	17	8,7
Totaux		26.588	957	900	94,0	3.317	626	18,8

TABLEAU XII. — Contrôle des vaccinations antivarioliques dans les subdivisions de Fatick et de Foundiougne.

LOCALITÉS	VACCIN UTILISÉ	NOMBRE de sujets vaccinés	SUJETS CONTRÔLÉS					
			Primovaccinés			Revaccinés		
			Nombre de sujets contrôlés	Positifs		Nombre de sujets contrôlés	Positifs	
				Nombre	p. 100		Nombre	p. 100
Niakhar (école)	Plotz.	57				40	0	0
Niakhar (village)	Plotz.	4.336	100	72	72,0	406	16	3,9
Toukhar	Plotz.	5.236	147	105	71,4	1.131	69	6,0
N'Diohine	Plotz.	1.208						
Fatick (école)	Plotz.	300	21	13	61,9	176	3	1,7
Fatick (village)	Plotz.	4.115	227	180	79,2	245	34	13,8
Diakhao	Plotz.	8.060	264	238	90,1	1.588	166	10,4
Foundiougne (école)	Plotz.	195				183	3	1,6
Totaux		23.307	759	608	80,0	3.772	291	7,7

vés permettent d'avoir une indication assez précise sur l'efficacité du vaccin utilisé.

Les résultats de ce contrôle sont relevés dans les tableaux IX à XII.

Pour des raisons indépendantes de notre volonté, le contrôle des vaccinations antivarioliques dans la subdivision de M'Bour n'a pu être effectué.

TABLEAU XIII. — Contrôle des vaccinations antivarioliques dans la circonscription de Dakar et dépendances.

LOCALITÉS ou groupements	VACCIN UTILISÉ	NOMBRE de sujets vaccinés	SUJETS CONTRÔLÉS					
			Primovaccinés			Revaccinés		
			Nombre de sujets contrôlés	Positifs		Nombre de sujets contrôlés	Positifs	
				Nombre	p. 100		Nombre	p. 100
Marine Dakar	Plotz.	66				66	0	
Ecole Thiong-Dakar . . .	Plotz.	33				33	0	
Ecole Sarraut-Dakar . . .	Plotz.	44				39	3	7
Ecole garçons Rufisque . .	Plotz.	31				31	5	16
Marine Dakar	Plotz.	64				64	3	4
Ecole filles Rufisque . . .	Plotz.	47	47	39	82,9			
Boulème (4)	Plotz.	94	74	58	78,3	16	3	18
Ecole garçons Rufisque . .	Plotz.	50	50	45	90,0			
Sébithioké	Plotz.	106	100	73	73,0			
Dougar	Plotz.	160	88	82	93,1			
Marine Dakar	Inst. de Vaccine.	28				28	4	14
Bargny-Minam	Inst. de Vaccine.	34	30	29	96,6	2	0	0
Bargny-Sindou	Inst. de Vaccine.	46	34	33	97,0			
Carrière Sébikotane . . .	Plotz.	270						
Ecole Sébikotane	Plotz.	71						
Deni-Niayes	Inst. de Vaccine.	101	14	13	92,8	3	0	0
Deni-Biram	Plotz.	96	18	15	83,3	2	0	0
Totaux		1.341	455	387	85,0	284	18	6

(4) Village de la subdivision de M'Bour.

Les résultats obtenus à la suite de la vaccination antivariolique sont sensiblement différents suivant les régions contrôlées, ainsi qu'on peut s'en rendre compte par l'examen des deux tableaux suivants qui résument les précédents.

TABLEAU XIV. — **Récapitulation**
du contrôle des vaccinations antivarioliques
dans les régions nord du Sénégal.

RÉGIONS ou groupements	NOMBRE de sujets vaccinés	NOMBRE de sujets contrôlés	SUJETS CONTRÔLÉS					
			Primovaccinés			Revaccinés		
			Nombre de sujets contrôlés	Positifs		Nombre de sujets contrôlés	Positifs	
				Nombre	p. 100		Nombre	p. 100
Cercle de Podor. . . .	4.150	3.697	1.600	240	15,0	2.097	160	7,6
Cercle de Matam. . . .	37.949	9.055	1.209	334	27,6	7.846	461	5,8
Ecoles de Saint-Louis.	898	169				469	0	0
	42.967	12.921	2.809	574	20,4	10.412	621	6,1

TABLEAU XV. — **Récapitulation du contrôle**
des vaccinations antivarioliques dans les régions sud du Sénégal.

RÉGIONS	NOMBRE de sujets vaccinés	NOMBRE de sujets contrôlés	SUJETS CONTRÔLÉS					
			Primovaccinés			Revaccinés		
			Nombre de sujets contrôlés	Positifs		Nombre de sujets contrôlés	Positifs	
				Nombre	p. 100		Nombre	p. 100
Subdivision de Kaolack. . .	26.588	4.269	957	900	94,0	3.317	626	18,8
Subdivisions de Fatick et Foundiougne.	23.507	4.534	759	608	80,0	3.772	291	7,7
Subdivision de M'Bour . . .	4.470							
Circonscription de Dakar. .	1.344	739	455	387	85,0	284	18	6,3
Totaux	53.906	9.539	2.171	1.895	87,2	7.373	935	12,6

Le contrôle dans la zone nord du Sénégal n'a donné qu'une faible proportion de résultats positifs (20,4 p. 100 chez les primovaccinés, 6,1 p. 100 chez les revaccinés) alors qu'il a été beaucoup plus satisfaisant dans les régions du sud (87,7 p. 100 de succès chez les primovaccinés et 12,6 p. 100 chez les revac-

cinés). Cette importante différence est due à l'action de la température atmosphérique sur le vaccin.

Notre campagne de vaccinations a coïncidé en effet avec la période la plus chaude de l'année au Sénégal. Dans les cercles de Podor et de Matam notamment, le thermomètre dépassait, chaque jour, 40°C à l'ombre. Or, comme nous l'avons déjà indiqué, le vaccin antivariolique de H. Plotz, dont nous désirions connaître le comportement à la température élevée qui régnait alors dans ces régions, avait été conservé sans autre précaution que celle de l'envelopper de linges mouillés. Au contraire, dans les cercles du sud, le vaccin de H. Plotz fut constamment maintenu à une température inférieure à +10°C, et, dans ces conditions, les pourcentages de succès se montrèrent aussi élevés que ceux que l'on obtient habituellement par l'emploi du vaccin antivariolique seul.

Le vaccin desséché de génisse de l'Institut de Vaccine semble doué d'une résistance remarquable à la chaleur. Dans le village de Gandiaye (subdivision de Kaolack), il a donné une proportion de succès de 100 p. 100 chez les primovaccinés et de 46,8 p. 100 chez les revaccinés, bien qu'ayant été conservé sans précaution spéciale.

B. CONTROLE DE LA VACCINATION ANTIAMARILE. — Le contrôle de la vaccination antiamarile (2) a consisté à prélever des échantillons de sang sur certains sujets vaccinés afin de comparer le test de séro-protection avant et après vaccination. D'une façon générale, les sujets choisis furent les élèves des écoles dont l'identité pouvait être facilement contrôlée. Les instituteurs avaient préparé les listes nominatives de leurs écoliers. Il nous a suffi de reporter sur ces listes les numéros des échantillons de sang recueillis dans des vénules.

1° Tests de séro-protection avant vaccination. — Nous avons déjà indiqué plus haut les raisons qui nous avaient guidés dans le choix des régions à vacciner. Ce choix s'est montré

(2) On se rendra compte de l'importance du contrôle effectué si l'on songe que 3.818 sérums ont été éprouvés : 2.140 avant vaccination et 1.678 (dont 48 au bout d'un an) après vaccination. Chaque sérum nécessitant 6 souris, c'est donc, avec les animaux témoins, plus de 24.000 souris blanches que nous avons dû inoculer.

judicieux, puisque sur 640 sérums prélevés avant vaccination dans les cercles de Podor, de Matam et à Saint-Louis, 32 seulement ont donné un test de séro-protection positif, soit une proportion de 5 p. 100. (Une enquête a d'ailleurs permis d'établir que les sérums protecteurs provenaient de sujets ayant vécu auparavant dans d'autres régions d'Afrique Occidentale.) Presque tous les sujets qui avaient fourni un échantillon de sang étaient donc utilisables pour le contrôle de la vaccination anti-amarile.

Au contraire, dans les cercles du sud du Sénégal, sur 934 sérums recueillis, 392 ont montré un pouvoir protecteur, soit une proportion de 41,9 p. 100. Cette proportion a été particulièrement élevée dans certains villages, atteignant 60 p. 100 à Nioro du Rip (subdivision de Kaolack), 67,5 p. 100 à Joal (subdivision de M'Bour), et 72,5 p. 100 à Niakhar (subdivision de Fatick). Ces résultats n'ont rien de surprenant si l'on songe que des cas avérés de fièvre jaune avaient encore été diagnostiqués deux ans plus tôt dans ces régions.

Ainsi les premières investigations sur l'endémicité amarile dans les régions que nous avons choisies pour y effectuer notre campagne de vaccinations, ont bien confirmé nos prévisions.

On trouvera plus loin, dans les tableaux XVI à XXIV, le détail des tests de séro-protection pratiqués avant vaccination.

2° *Tests de séro-protection après vaccination.* — La récolte des échantillons de sang destinés à contrôler l'efficacité de la vaccination anti-amarile a été exclusivement pratiquée sur les écoliers dont le sérum s'était montré dépourvu de pouvoir protecteur avant vaccination. Dans la zone du Fleuve, cependant, nous avons fait exception à la règle en pratiquant un sondage dans la population de certains villages. Les résultats en sont consignés dans le tableau XVIII.

Les sérums ont été recueillis par l'un de nous aux époques suivantes :

Du 4 au 7 juillet 1939 sur le Fleuve, soit un mois et demi à deux mois après la vaccination ;

Du 6 au 10 novembre 1939 dans les régions sud, soit quatre mois et demi à cinq mois après la vaccination pour les

subdivisions de Kaolack, Fatick et Foundiougne, et trois mois et demi pour la subdivision de M'Bour.

Il nous a été facile de retrouver les sujets sur lesquels nous étions désireux de prélever un deuxième échantillon de sang. Pour les cercles du sud, nous nous sommes trouvés dans l'obligation de différer la récolte des sérums jusqu'au mois de novembre, époque de la rentrée des classes. Pendant les

TABLEAU XVI. — Contrôle des vaccinations antiamariles dans les écoles du cercle de Podor.

LOCALITÉS	TESTS AVANT VACCINATION				TESTS APRÈS VACCINATION (chez des sujets dont le test a été négatif avant vaccination)				
	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Nombre de négatifs	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Fortement positifs	
		Nombre	p. 100			Nombre	p. 100	Nombre	p. 100
Podor.	120	5	4,1	115	105	105	100	81	77,1
N'Dioum	50	1	2,5	39	37	37	100	26	70,2
Cascas	40	1	2,5	39	38	38	100	27	71,0
Saldé	50	1	2,5	39	29	27	93,1	21	72,4
Totaux	240	8	3,3	232	209	207	99,0	155	74,1

TABLEAU XVII. — Contrôle des vaccinations antiamariles dans les écoles du cercle de Matam.

LOCALITÉS	TESTS AVANT VACCINATION				TESTS APRÈS VACCINATION (chez des sujets dont le test a été négatif avant vaccination)				
	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Nombre de négatifs	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Fortement positifs	
		Nombre	p. 100			Nombre	p. 100	Nombre	p. 100
Thilogne	40	0	0	40	35	31	88,5	30	85,7
Matam	120	9	7,5	111	104	103	99,0	84	80,7
Kanel.	50	0	0	50	39	37	94,8	27	69,2
Totaux	200	9	4,5	191	178	171	96,0	141	79,2

grandes vacances, les élèves sont dispersés et nous aurions alors éprouvé de grandes difficultés pour les rassembler en nombre suffisant. Ce motif explique le délai de quatre à cinq mois qui, dans les régions du sud, a séparé les vaccinations de la récolte des sérums de contrôle.

Les tableaux XVI à XXIII font connaître les résultats obtenus à la suite des épreuves de séro-protection antiamarile avant et après vaccination.

TABLEAU XVIII. — Contrôle des vaccinations antiamariles
dans des villages des cercles de Podor et Matam.
(sujets non contrôlés avant vaccination).

LOCALITÉS	POURCENTAGE obtenu chez les écoliers avant vaccination	TESTS APRÈS VACCINATION				
		Nombre de sérums évalués	Positifs		Fortement positifs	
			Nombre	p. 100	Nombre	p. 100
Podor	4,1	93	88	94,6	58	62,3
Matam	7,5	91	79	86,8	53	58,2
Kanel	0	41	39	95,1	31	75,6
Villages divers .		18	17	94,4	11	61,1
Totaux	3,8	213	223	91,7	153	62,9

TABLEAU XIX. — Contrôle des vaccinations antiamariles
dans les écoles de Saint-Louis.

ÉCOLES	TESTS AVANT VACCINATION				TESTS APRÈS VACCINATION (chez des sujets dont le test a été négatif avant vaccination)					
	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Nombre de négatifs	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Fortement positifs		
		Nombre	p. 100			Nombre	p. 100	Nombre	p. 100	
Ecole Blanchot . . .	10	7	17,5	33	17	16	94,1	9	52,9	
Ecole Duval	80	3	3,7	77	70	69	98,5	60	85,7	
Ecole Brière de l'Isle.	80	5	6,2	75	71	69	93,2	54	72,9	
Totaux	200	15	7,5	185	161	154	95,6	123	76,3	

TABLEAU XX. — Contrôle des vaccinations antiamariles
dans les écoles de la subdivision de Kaolack.

LOCALITÉS	TESTS AVANT VACCINATION				TESTS APRÈS VACCINATION (chez des sujets dont le test a été négatif avant vaccination)				
	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Nombre de négatifs	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Fortement positifs	
		Nombre	p. 100			Nombre	p. 100	Nombre	p. 100
Kaolack . . .	200	71	35,5	129	90	90	100	84	93,3
Gossas	70	33	47,1	37	23	28	100	25	89,2
Gandiaye ¹ . . .	70	24	34,3	46	34	33	97,0	29	85,2
Nioro du Rip .	40	24	60,0	16	11	11	100	9	81,8
Guinguinéo . .	40	8	20,0	32	25	25	100	21	84,0
Totaux . . .	420	160	38,0	260	188	187	99,4	168	89,3

TABLEAU XXI. — Contrôle des vaccinations antiamariles
dans les écoles des subdivisions de Fatick et Foundiougne.

LOCALITÉS	TESTS AVANT VACCINATION				TESTS APRÈS VACCINATION (chez des sujets dont le test a été négatif avant vaccination)					
	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Nombre de négatifs	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Fortement positifs		
		Nombre	p. 100			Nombre	p. 100	Nombre	p. 100	
Niakhar . . .	40	29	72,5	11	7	7	100	6	85,7	
Fatick	200	77	38,5	123	96	93	96,8	92	95,8	
Foundiougne .	194	87	44,8	107	91	89	97,8	85	93,4	
Totaux . . .	434	193	44,4	241	194	189	97,4	183	94,3	

TABLEAU XXII. — Contrôle des vaccinations antiamariles
dans la subdivision de M'Bour.

LOCALITÉS	TESTS AVANT VACCINATION				TESTS APRÈS VACCINATION (chez des sujets dont le test a été négatif avant vaccination)				
	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Nombre de négatifs	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Fortement positifs	
		Nombre	p. 100			Nombre	p. 100	Nombre	p. 100
Fadiouth . . .	40	12	30,0	28	24	24	100	23	95,8
Joal.	40	27	67,5	13	7	6	85,7	6	85,7
Totaux . .	80	39	48,7	41	31	30	96,7	29	93,5

TABLEAU XXIII. — Contrôle des vaccinations antiamariles
dans la circonscription de Dakar et dépendances.

CENTRES OU LOCALITÉS	TESTS AVANT VACCINATION				TESTS AVANT VACCINATION (chez des sujets dont le test a été négatif avant vaccination)					
	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Nombre de négatifs	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Fortement positifs ¹		
		Nombre	p. 100			Nombre	p. 100	Nombre	p. 100	
Marine Dakar	62	11	17,7	51	51	49	96,0	44	86,2	
Ecole Thiong-Dakar . . .	33	0	0	33	33	33	100	29	87,8	
Ecole Sarraut-Dakar . . .	44	0	0	44	39	36	92,3	32	82,0	
Ecole garçons Rufisque.	31	0	0	31	29	29	100	28	96,5	
Marine Dakar	30	15	50,0	15	15	15	100	15	100	
Marine Dakar	33	10	43,0	23	23	23	100	22	95,6	
Ecole filles Rufisque . .	43	11	25,5	32	31	18	58,0	18	58,0	
Boulème (1)	47	16	34,0	31	28	24	85,7	20	71,4	
Ecole garçons Rufisque.	44	12	27,2	32	32	27	84,3	27	84,3	
Sébithioko	41	6	14,6	35	32	32	100	28	87,5	
Douggar	45	13	33,3	30	28	28	100	27	96,4	
Marine Dakar	27	12	44,4	15	15	14	93,3	12	80,0	
Bargny-Minam	15	1	6,6	14	14	14	100	10	76,4	
Bargny-Sindou	31	2	6,4	29	27	27	100	23	85,4	
Déni-Niayes	20	0	0	20	15	15	100	14	93,3	
Déni-Biram	20	3	15,0	17	14	14	100	13	92,8	
Totaux	366	114	20,1	152	426	398	93,4	362	84,4	

(1) Village de la subdivision de M'Bour.

Voici, enfin, résumés dans le tableau ci-dessous, tous les résultats du contrôle des vaccinations antiamariles.

TABLEAU XXIV. — **Récapitulation**
du contrôle des vaccinations antiamariles effectuées au Sénégal.

RÉGIONS OU GROUPEMENTS	TESTS AVANT VACCINATION				TESTS APRÈS VACCINATION					
	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Nombre de négatifs	Nombre de sérums éprouvés	Positifs		Fortement positifs		
		Nombre	p. 100			Nombre	p. 100	Nombre	p. 100	
Ecoles cercle Podor	240	8	3,3	232	209	207	99,0	153	74,1	
Ecoles cercle Matam. . . .	200	9	4,5	191	178	171	96,0	141	79,2	
Villages cercles Podor et Matam	Non contrôlés avant vaccination.				243	223	91,7	153	62,9	
Ecoles de Saint-Louis . . .	200	15	7,5	185	161	154	95,6	123	76,3	
Totaux des régions nord.	640	32	5,0	608	791	735	93,4	572	72,3	
Ecoles subdivision Kaolack.	420	160	38,0	260	188	187	99,4	168	89,3	
Ecoles subdivisions Fatick et Foundiougne	134	193	144,4	241	194	189	97,4	183	94,3	
Ecoles subdivision M'Bour.	80	39	48,7	41	31	30	96,7	29	93,5	
Totaux des régions sud.	934	392	41,9	542	413	406	98,3	380	92,0	
Circonscription de Dakar. .	566	114	20,1	452	426	398	93,4	362	84,9	
Totaux généraux	2.140	538	25,1	1.602	1.630	1.559	95,6	1.314	80,6	

Ainsi, sur un total de 1.630 sujets contrôlés, parmi lesquels 1.387 avaient donné un test de séro-protection négatif avant la vaccination, l'inoculation par scarifications cutanées du vaccin antiamaril, associé au vaccin jennérien, nous a permis d'obtenir une proportion de 95,6 p. 100 de tests positifs (dont 80,6 p. 100 fortement positifs).

Tels quels, ces résultats globaux sont assez concluants pour affirmer l'efficacité de la méthode de vaccination antiamarile par scarification, et justifier sa généralisation. Cependant, si nous les examinons en détail, nous voyons que, comme pour la vaccination antivariolique, ces résultats sont plus particulièrement satisfaisants pour les régions du sud.

Les 791 sérums prélevés après vaccination dans les cercles du fleuve ont donné en effet 95,4 p. 100 de tests positifs (dont

72,3 p. 100 fortement positifs), alors que sur les 413 échantillons recueillis dans les territoires du sud, nous avons obtenu 98,3 p. 100 de tests positifs (dont 92 p. 100 fortement positifs).

Dans les deux cas, le vaccin antiamaril utilisé avait cependant subi les mêmes modes de préparation et de conservation. Il faut, ici encore, attribuer la différence constatée à l'action des facteurs climatiques (température, lumière solaire) sur le virus, à partir du moment où celui-ci était retiré du récipient réfrigérant. La température, nettement plus élevée dans la zone du fleuve, a certainement provoqué une atténuation plus rapide de ce virus pendant le temps nécessaire (dix minutes à un quart d'heure) pour épuiser chaque suspension vaccinale de 100 doses. De plus, nous avons souvent rencontré de grandes difficultés, dans les régions nord, pour mettre les sujets vaccinés à l'abri des rayons solaires. Enfin, parmi les 791 sérums recueillis dans ces mêmes régions, après vaccination, 243 ont été prélevés au hasard, sur des enfants dont le sérum n'avait pas été éprouvé avant vaccination. Comme nous ne possédions pas de contrôle nominatif de ces sujets, il est permis de penser que quelques-uns d'entre eux avaient pu échapper à la vaccination.

3° *Durée de l'immunité antiamarile.* — La vaccination anti-amarile, par scarification cutanée, est d'application encore trop récente pour que nous soyons fixés sur la durée de l'immunité conférée par ce procédé. Cependant on peut présumer qu'elle se maintiendra dans les mêmes conditions qu'à la suite de l'injection sous-cutanée, puisque, dans les deux méthodes, le virus inoculé se multiplie de façon identique dans le sang des individus vaccinés.

Nous avons eu, tout récemment, l'occasion de rechercher le pouvoir protecteur du sérum des premiers sujets qui ont été soumis à la vaccination mixte par scarification cutanée. Il s'agit de 66 matelots indigènes appartenant à la marine de Dakar et vaccinés le 16 novembre 1938 (voir tableaux VII et XXIII). Le 29 novembre 1939, nous avons recueilli un échantillon de sang sur 48 d'entre eux, dont le test de séro-protection avait été négatif avant vaccination : 47 nous ont donné un résultat positif (dont 46 fortement positif) ; un seul sérum

s'est montré négatif ; il provenait d'un matelot dont le pouvoir protecteur s'était déjà révélé nul lors du premier contrôle effectué un mois et demi après la vaccination.

Ainsi, nous pouvons déjà conclure que l'immunité conférée par la vaccination antiamarile par scarification cutanée persiste intacte pendant au moins un an.

III. — RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

Nous avons pu appliquer notre méthode de vaccination mixte antiamarile-antivariolique par scarification cutanée sur 98.873 sujets indigènes du Sénégal (3).

Les inoculations ont été parfaitement supportées, même par les nourrissons. Aucune suite fâcheuse n'a été signalée, en particulier aucun cas de fièvre jaune dû à la transmission du virus par les Stégomyies, n'a été observé.

Le contrôle de ces vaccinations nous a permis de confirmer les résultats que nous avions déjà obtenus. Le vaccin jennérien, associé au vaccin antiamaril, procure le même pourcentage de succès que lorsqu'il est employé seul. De son côté, le vaccin antiamaril nous a donné une porportion de 93 p. 100 de tests de séro-protection positifs. L'immunité antiamarile ainsi obtenue se maintient sans fléchir pendant au moins un an.

Pour obtenir les meilleurs résultats, il est indispensable d'observer les précautions suivantes :

1° Pratiquer les vaccinations en dehors de la saison chaude qui va de mars à juin ;

2° Placer, autant que possible, les sujets vaccinés à l'abri des rayons solaires pendant une dizaine de minutes après la vaccination ;

3° Conserver le vaccin antiamaril au contact de la glace jusqu'au moment de son emploi ;

(3) Au cours des trois derniers mois écoulés, nous avons encore pratiqué 2.667 vaccinations par scarification cutanée dans la circonscription de Dakar. Ces vaccinations, *effectuées avec le virus amaril seul*, ont porté sur 1.510 sujets de race blanche (parmi lesquels 50 enfants de quatre à dix ans) et 1.157 indigènes. Nous en ferons prochainement connaître les résultats.

4° Utiliser un vaccin antivariolique résistant aux températures élevées, sinon le maintenir à l'abri de la chaleur et de la lumière.

Il nous paraît inutile d'insister longuement sur les avantages de la nouvelle méthode. Son innocuité, sa simplicité et sa rapidité d'exécution lui confèrent les plus grandes possibilités de généralisation, d'autant mieux que les masses indigènes acceptent beaucoup plus aisément l'inoculation par scarification cutanée que l'injection hypodermique. En accord avec le Gouvernement Général de l'A.O.F., une campagne de vaccinations mixtes va être entreprise, dès le début de 1940, sur les populations de Côte d'Ivoire et du Soudan. La méthode sera ensuite progressivement étendue aux autres Colonies de la Fédération.

Ainsi, à la lutte déjà entreprise contre la variole, nous pouvons associer une méthode propre à combattre efficacement la fièvre jaune dont la menace d'extension subsistera tant que nous n'aurons pas enlevé aux masses indigènes la possibilité de constituer des réservoirs de virus importants. Par la généralisation de cette méthode, nous parviendrons à supprimer ces réservoirs de virus et à faire disparaître le typhus amaril de l'Afrique française dans un avenir assez proche.

MODIFICATIONS SANGUINES PROVOQUÉES PAR LES VENINS

(QUATRIÈME MÉMOIRE)

ACTION HÉMOLYTIQUE ET VARIATIONS DE LA RÉSISTANCE GLOBULAIRE *IN VIVO*

par J. VELLARD (*).

(*Mission Vellard en Amérique du Sud.*)

Dans un mémoire précédent, en collaboration avec Miguelote Vianna (1), nous avons étudié les variations des globules sanguins au cours de l'intoxication ophidique chez le chien et le rat. Reprenant ces recherches interrompues par diverses missions biologiques dans l'Amérique du Sud, nous nous occuperons maintenant des variations des propriétés hémolytiques du sérum et de la résistance globulaire chez le chien.

L'action hémolytique des venins, objet de nombreux travaux *in vitro*, est encore mal connue *in vivo*. Au cours de l'intoxication ophidique les propriétés phosphatidasiques des venins, facteurs actifs de l'hémolyse, s'exercent à la fois sur les éléments du plasma et sur les globules. Les venins de Vipéridés et ceux de quelques Colubridés possèdent en outre des propriétés coagulantes et protéasiques dont l'action tend à entraver l'hémolyse et à renforcer la résistance globulaire. Suivant les phases de l'intoxication les résultats observés varient et peuvent s'éloigner beaucoup de ceux que laisserait prévoir l'étude du pouvoir hémolytique du venin *in vitro*.

La plupart des auteurs, s'en tenant aux faits acquis *in vitro*, se sont limités à signaler *in vivo* les altérations et les variations numériques des globules sanguins. Peu de travaux ont été consacrés aux modifications de la résistance globulaire ou aux conditions d'apparition des hémolysines circulantes.

(*) Chargé de recherches.

(1) Ces *Annales*, 55, 1935, p. 46.

Troisier et Richet ont mis les premiers en évidence la diminution de la résistance globulaire produite par les venins non coagulants de colubridés (*Naja tripudians*).

L'action des venins de Crotalinés de l'Amérique du Sud, à la fois coagulants et protéolytiques, est plus complexe. En Argentine, Houssay et ses collaborateurs, entre autres Aquino, ont observé, après l'injection de venin de ce groupe par voie veineuse, une augmentation initiale de la résistance globulaire (différences de 0,02 à 0,06 p. 100 dans le titre des solutions salines nécessaires pour produire l'hémolyse) qu'ils attribuent trop exclusivement à la précipitation du fibrinogène au moment du choc provoqué par les venins coagulants. Le fibrinogène précipité en se déposant sur les globules les recouvrirait d'une couche protectrice. Cette élévation initiale de la résistance globulaire, notée seulement par ces auteurs avec des globules non lavés, est suivie, ou non, d'une diminution postérieure d'accord avec les propriétés hémolytiques plus ou moins accusées de chaque venin.

Dans tous ces travaux la résistance globulaire a été étudiée en relation à des solutions salines hypotoniques. Les résultats ainsi obtenus ne renseignent pas sur les variations de la résistance globulaire aux hémolysines formées dans le plasma au contact des venins (2). Il est facile de le vérifier *in vitro*. Des globules de cheval, lavés, mis en contact pendant une heure avec une solution de venin à 1 p. 1.000 montrent, vis-à-vis des solutions salines hypotoniques, une diminution de résistance en rapport direct avec l'activité hémolytique et inverse du pouvoir coagulant du venin employé. La résistance s'élève légèrement avec les venins très coagulants et peu ou pas hémolytiques.

La résistance globulaire à l'action hémolytique des venins est au contraire augmentée dans les mêmes conditions. L'addition de sérum frais à des globules ayant été lavés, puis soumis à une incubation d'une heure avec une solution de venin, provoque une hémolyse plus lente et plus difficile que dans les tubes témoins où le sérum et le venin sont ajoutés simultanément aux globules, sans incubation préalable (venins hémoly-

(2) J. VELLARD. *C. R. Acad. Sc.*, **208**, 1939, p. 669.

tiques peu ou pas coagulants) ; avec des venins hémolytiques et très coagulants l'hémolyse dans ces conditions est fortement diminuée ou supprimée (3).

Au cours de l'envenimation ophidique, des propriétés hémolytiques apparaissent dans le plasma des animaux ; elles entraînent une lyse plus ou moins forte des propres globules et la mise en liberté d'hémoglobine ; dans certains cas le sérum devient lactescent. Des recherches réalisées avec les venins de *Naja tripudians* et de *Bothrops neuwiedii* ont montré une diminution considérable du phosphore lipoidique pouvant atteindre 60 p. 100, des acides gras (22 p. 100) et des substances grasses totales (D. Potick).

Dans un premier mémoire (4), en collaboration avec Miguelote Vianna, nous avons indiqué que le venin de *Bothrops atrox* (du Nord-Est du Brésil) produit généralement chez le chien une diminution immédiate des propriétés hémolytiques naturelles du sérum pour les globules lavés de mouton, suivie d'une élévation postérieure transitoire, puis d'une nouvelle baisse très prolongée. Le choix des globules de mouton comme réactif introduit un facteur étranger dans cette étude, établissant une confusion entre deux faits distincts : les variations des hémolysines naturelles chien + mouton et la formation d'hémolysines nouvelles sous l'action du venin.

Pour dissocier ces deux phénomènes, nous étudierons comparativement, dans ce nouveau travail, les variations des propriétés hémolytiques du sérum du chien pour ses propres globules et pour des globules étrangers, cheval et mouton.

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

Douze échantillons de venin ont été étudiés : *Naja tripudians* (Bombay) ; *Elaps lemniscatus* L., serpent corail (Nord-Est du Brésil) ; *Lachesis muta* L. (Nord-Est du Brésil) ; 4 échantillons de venin de *Crotalus terrificus* Laur., (du Venezuela, du Nord-Est du Brésil, du Brésil central et de l'Argentine) ; 2 échantillons de venin de *Bothrops atrox* L. (Venezuela et Nord-Est du Brésil) ; *B. jararaca* Wied. (Rio de Janeiro) ; *B. erythro-*

(3) C. R. Acad. Sc., 208, 1919, p. 538.

(4) Ces Annales, 14, 1932, p. 445.

melas Am. (Nord-Est du Brésil) et *B. alternata* D. et B. (Argentine).

Les divers échantillons de venin de *C. terrificus* et de *B. atrox* étudiés ont montré des différences de propriétés considérables, déjà signalées dans des publications précédentes (5).

Toutes les recherches ont été réalisées sur le chien, dont le sérum et les globules sont très sensibles à l'action du venin, tantôt par voie intraveineuse, tantôt par voie intramusculaire. La voie péritonéale, trop douloureuse avec le venin de *Crotalinés*, n'a été utilisée que pour les venins de *Naja* et d'*Elaps*. Les animaux étaient fixés sur la table d'opérations, sans anesthésie. Les échantillons de sang ont été obtenus par ponction cardiaque : d'abord avant l'injection de venin, puis à des intervalles variables après celle-ci, généralement cinq, quinze, trente, quarante-cinq, soixante, quatre-vingt-dix, cent vingt et cent quatre-vingts minutes ; les saignées s'espaçaient ensuite jusqu'à la mort ou au rétablissement.

Les recherches suivantes ont été faites :

1° Pouvoir hémolytique du sérum pour les propres globules normaux (recueillis avant l'injection du venin et lavés).

2° Pouvoir hémolytique du sérum pour les globules lavés de mouton.

3° Pouvoir hémolytique du sérum pour les globules lavés de cheval.

4° Pouvoir hémolytique *in vitro* du sérum pour les propres globules normaux (recueillis avant l'injection et lavés) en présence d'un venin hémolytique (*Lachesis muta*).

5° Résistance globulaire aux solutions hypotoniques.

6° Résistance globulaire à l'action hémolytique du venin de *Lachesis muta* en présence de sérum normal de cheval.

Le temps de coagulation et l'aspect du sérum étaient notés à chaque épreuve. Les globules (chien, cheval, mouton) obtenus par agitation du sang avec des perles de verre étaient lavés immédiatement après la saignée, à trois reprises, dans une solution de NaCl à 9,5 p. 1.000. Les suspensions utilisées étaient normales (ramenées au volume primitif du sang), ou diluées à 5 p. 100.

(5) C. R. Acad. Sc., 204, 1937, p. 1369 ; *Ibid.*, 1937, p. 1679.

RÉSULTATS.

Quarante chiens ont été utilisés. Les résultats obtenus peuvent être réunis en trois groupes, suivant les propriétés hémolytiques et coagulantes des venins :

a) Venins hémolytiques, peu ou pas coagulants : *Naja tripudians*, *Elaps lemniscatus*.

b) Venins hémolytiques et coagulants : *Crotalus terrificus*, *Lachesis muta*, *Bothrops atrox*, *B. erythromelas*.

c) Venins coagulants, peu ou pas hémolytiques : *Bothrops alternata*, *B. jararaca*.

A. VENINS HÉMOLYTIQUES, PEU OU PAS COAGULANTS. — Nous prendrons pour type le venin de *Naja tripudians*, *in vitro* fortement hémolytique (Un. hém. 0,02), anti-coagulant (Un. a. coag. 0,2) et sans action protéolytique.

La formation d'auto-hémolysines a été évaluée en faisant agir des doses fixes de sérum du chien (0 c. c. 1) sur des doses croissantes (0 c. c. 15 à 1 c. c. 5) de globules du même animal, en suspension à 5 p. 100, recueillis avant l'injection du venin ; bain-marie 37°, lecture en trente minutes.

Presque aussitôt après l'injection intraveineuse le sérum devient hémolytique pour ses propres globules (phase positive) ; chez un de nos animaux, deux minutes après l'injection, 0 c. c. 1 de sérum hémolysait totalement dans les conditions indiquées 0 c. c. 2 de globules. Le pouvoir autohémolytique du sérum passe par un maximum entre deux à cinq minutes, puis s'abaisse progressivement et retombe à zéro (phase négative) avant la fin de la première heure (entre quarante et soixante minutes en moyenne). On obtient ainsi une courbe très régulière.

Après les injections intramusculaires ou intrapéritonéales, les résultats sont dans l'ensemble identiques aux précédents, mais présentent certain décalage : les hémolysines apparues dans les cinq premières minutes atteignent leur maximum d'intensité vers la quinzième minute et disparaissent encore avant la fin de la première heure.

En remplaçant dans la réaction précédente les globules de

chien par ceux de mouton, les résultats sont totalement différents. Ces globules sensibles aux hémolysines naturelles du sérum de chien, sont très résistants à l'action hémolytique des venins. La courbe obtenue dans ces conditions représente les variations des hémolysines naturelles chien + mouton sous l'influence du venin ; les hémolysines venimeuses ne jouent ici aucun rôle direct.

Quelle que soit la voie employée, le venin de *Naja* provoque une diminution rapide et très accusée des propriétés hémolytiques naturelles du sérum de chien pour les globules de mouton. Leur courbe s'abaisse dès l'apparition des autohémolysines, passe par un minimum coïncidant avec le maximum d'activité de ces dernières, puis se relève à leur disparition de la circulation. Dans la plupart des cas elle se maintient un peu au-dessous de la normale quelques heures encore après l'injection.

Les globules de cheval sont sensibles à la fois aux hémolysines naturelles du sérum de chien et aux hémolysines venimeuses. L'aspect de la courbe obtenue en les substituant dans la réaction précédente aux globules de chien ou de mouton est influencé par les variations respectives de ces deux groupes d'hémolysines au cours de l'intoxication.

Au début, la courbe accompagne d'assez près celle des autohémolysines (élévation initiale suivie de chute avant la fin de la première heure) ; quand celles-ci disparaissent, elle tombe au-dessous de sa valeur primitive ; elle se relève souvent légèrement au cours de la deuxième heure, en même temps que la courbe des hémolysines chien + mouton, puis se stabilise pour ne revenir que tardivement au voisinage de son niveau primitif.

ACTION HÉMOLYTIQUE DU SÉRUM *in vitro* EN PRÉSENCE D'UN VENIN. — La formation d'hémolysines circulantes au début de l'envenimation (phase positive) représente le premier stade de la démolition des phosphatides sanguins ; à une période plus avancée l'attaque des phosphatides se poursuit (phase négative), ces hémolysines disparaissent. Cette transformation progressive des phosphatides entraîne dès le début de la phase positive la diminution graduelle, puis la suppression, de la

propriété normale du sérum de former *in vitro* de nouvelles hémolysines au contact d'un venin.

La régénération des phosphatides est lente et plusieurs jours sont ensuite nécessaires pour que le sérum épuisé récupère sa faculté de devenir hémolytique en présence des venins.

Le pouvoir hémolytique du sérum a été évalué d'après le volume de globules que peut hémolyser en trente minutes une dose fixe du sérum à étudier (0 c. c. 1) en présence de 0 c. c. 1 d'une solution à 1 p.1.000 de venin fortement hémolytique de *Lachesis muta* : sérum et venin sont ajoutés, sous incubation préalable, à des tubes contenant des doses croissantes (0 c. c. 2 à 1 c. c. 2) de globules normaux du chien en expérience (recueillis avant l'injection du venin), lavés, en suspension à 5 p. 100 ; bain-marie à 37° C ; lecture en trente minutes.

Après les injections intraveineuses, le pouvoir hémolytique du sérum *in vitro* en présence d'un venin s'abaisse de façon considérable dès l'apparition des autohémolysines circulantes et disparaît en une quinzaine de minutes, généralement avant la disparition des hémolysines de la circulation.

Les injections intramusculaires ou péritonéales agissent plus lentement. Elles provoquent, à l'apparition des hémolysines circulantes, une chute initiale brusque du pouvoir hémolytique du sérum *in vitro* ; la courbe s'abaisse ensuite lentement pour tomber à zéro vers la fin de la première heure ou le début de la seconde.

Dans aucun cas, avec ce venin, je n'ai pu mettre en évidence une élévation initiale du pouvoir du sérum de former *in vitro* de nouvelles hémolysines au contact du venin.

La courbe du pouvoir hémolytique du sérum en présence d'un venin (sérum + globules + venin) ne se confond pas avec celles des autohémolysines (sérum + globules aux mêmes doses et recueillis dans les mêmes conditions, sans venin). Elle s'abaisse brusquement quand cette dernière commence à s'élever, la coupe en général au moment où les hémolysines circulantes diminuent et tombe presque toujours avant elle à zéro. La démolition des phosphatides, entraînant la disparition des hémolysines formées dans la circulation au début de la phase positive, est accélérée par l'addition *in vitro* de venin au sérum, d'où cette discordance des deux courbes.

Un fait comparable s'observe en faisant agir *in vitro* des doses croissantes (0 milligr. 001 à 1 milligr. 0) d'un venin hémolytique (*Lachesis muta*, par exemple) sur un sérum normal (chien ou cheval) en présence de globules homologués normaux. Les premiers tubes ne montrent aucune hémolyse par insuffisance de venin ; les doses moyennes provoquent une hémolyse croissante, passant par un maximum, puis diminuant dans les tubes immédiatement supérieurs ; avec les doses élevées l'excès de venin ne permet plus de saisir l'hémolyse.

Les variations de la résistance globulaire aux solutions salines hypotoniques ou à toute autre action physique, telle que l'agitation mécanique, gardent une relation étroite avec l'activité des hémolysines circulantes.

La résistance globulaire a été mesurée en relation à des solutions de NaCl de titre variable de 2,8 à 7,2 p. 1.000. Pour chaque série 12 tubes de réaction étaient utilisés, plus les tubes de contrôle nécessaires ; le titre des dilutions variait de 0,4 en 0,4 p. 1.000. L'émulsion globulaire en solution de NaCl isotonique (9,5 p. 1.000) était ramenée au volume primitif du sang défibriné. Chaque tube recevait 0 c. c. 1 de cette émulsion et 2 cent. cubes de solution de NaCl de titre variable ; bain-marie à 37° C ; lecture en trente minutes.

Le venin de *Naja* produit, dès l'apparition des hémolysines circulantes, une diminution considérable de la résistance globulaire. Après les injections intraveineuses de doses assez élevées de venin (5 milligrammes), les globules souvent ne résistent pas à une centrifugation, même modérée ; après les injections intrapéritonéales et surtout intramusculaires leur fragilité est un peu moins grande. Dès que les hémolysines circulantes diminuent, la résistance globulaire se relève lentement et revient aux environs de la normale vers la fin de la première heure ou dans le courant de la seconde ; dans quelques cas elle s'élève même légèrement au-dessus de sa valeur primitive. Aucun animal n'a présenté, avec ce venin, d'élévation initiale de la résistance globulaire à l'action des solutions hypotoniques. *Les variations de la résistance globulaire à l'action des hémolysines venimeuses* sont totalement diffé-

rentes des variations de la résistance aux solutions hypotoniques.

Elles ont été évaluées d'après l'intensité de l'hémolyse produite en trente minutes, au bain-marie à 37° C, par l'action d'un volume fixe de sérum normal de cheval (0 c. c. 1), en présence d'un volume fixe de venin de *Lachesis muta* (0 c. c. 1 sol. 1 p. 1.000), sur des quantités variables de globules lavés (émulsion à 5 p. 100) du chien en expérience.

Au cours des premières minutes après les injections intra-veineuses ou intrapéritonéales, la résistance globulaire étudiée dans ces conditions s'élève rapidement ; elle se maintient en plateau ou augmente encore légèrement tant que les hémolysines sont présentes dans la circulation (première heure) ; elle revient tardivement à la normale.

Après les injections intramusculaires, l'élévation de la résistance globulaire est plus lente et plus discrète. Un des animaux ayant reçu 15 milligrammes de venin par cette voie a présenté, au lieu de l'élévation habituelle, une diminution initiale de la résistance globulaire entre la quinzième et la trentième minute ; elle revint à sa valeur primitive à la quarante-cinquième minute et se maintint légèrement au-dessus jusqu'au lendemain.

La diminution initiale de la résistance globulaire à l'action hémolytique des venins doit être la règle, mais elle est très brève et difficile à mettre en évidence : elle ne peut être observée qu'en lavant les globules, aussitôt après la saignée, pour les débarrasser du sérum et empêcher l'action des auto-hémolysines de se produire *in vitro*. Sur 40 chiens étudiés dans les conditions les plus diverses et avec différents venins, je n'ai pu saisir nettement que quatre fois cette phase initiale après des injections intramusculaires de faibles doses de venin ou avec des venins peu hémolytiques, c'est-à-dire toujours dans des cas où les symptômes évoluaient au ralenti.

L'élévation de la résistance globulaire est parallèle à la formation des hémolysines dans la circulation : plus le sérum se montre hémolytique pour ses propres globules, plus la résistance globulaire aux hémolysines venimeuses augmente.

Ces variations de la résistance aux hémolysines venimeuses, traduisant une action directe du venin sur les phosphatides

globulaires, analogue à celle observée sur les phosphatides du plasma, peuvent être reproduites *in vitro* en faisant agir une solution de venin de *Naja* sur des globules normaux lavés.

Au début (phase positive), l'activation des phosphatides globulaires provoque *in vitro* comme *in vivo* le gonflement des globules sans aboutir à l'hémolyse spontanée et la diminution très brève de leur résistance aux hémolysines venimeuses ; presque aussitôt (phase négative), la transformation de phosphatides s'accroissant, ceux-ci deviennent incapables de réagir au venin, entraînant l'élévation prolongée de la résistance globulaire aux hémolysines venimeuses.

Ce mécanisme joue un rôle important dans la défense de l'organisme au cours de l'intoxication venimeuse.

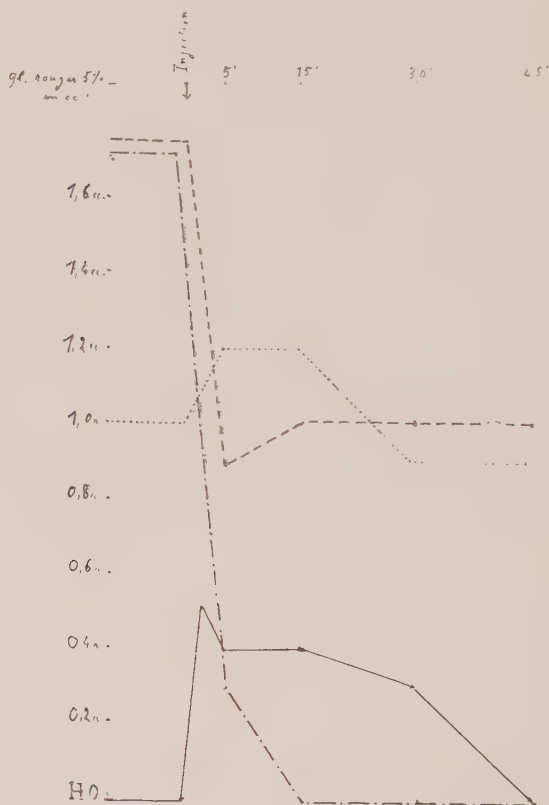
Deux exemples suffisent pour documenter ces faits.

Chien N. R. 3 ♂, 5.500 grammes ; fixé sur la table d'opérations. Injection intraveineuse de 5 milligrammes de venin. A la fin de la troisième minute, dyspnée modérée accompagnée d'un léger état de torpeur, se dissipant en une dizaine de minutes ; quinze minutes, cris, agitation, polypnée accusée ; trente minutes, paralysie progressive des muscles du larynx et du pharynx ; salivation abondante ; trente-cinq

	AVANT L'INJECTION	APRÈS L'INJECTION				
		2 minutes	5 minutes	15 minutes	30 minutes	44 minutes
1. Action hémolytique du sérum × propres globules	0	0,3	0,4	0,4	0,3	0
2. Action hémolytique du sérum × globules mouton	1,8	1,1	0,9	1,0	1,0	1,0
3. Action hémolytique du sérum × globules cheval	1,0	1,2	1,2	1,2	0,9	0,9
4. Action hémolytique <i>in vitro</i> du sérum + venin <i>L. mula</i> × propres globules	2,0	0,3	0,3	0	0	0
5. Résistance globulaire aux solutions hypotoniques, p. 1.000	0,3	Hémolyse spontanée.				7,2
6. Résistance globulaire aux hémolysines venimeuses	1,4	1,0	1,0	1,0	1,0	0,8
7. Coagulation sanguine	N	N	R	R	R	R
8. Aspect du sérum	N	L	L	LL	LH	LH

Notation : 1, 2, 3, 4 et 6, volume le plus élevé de globules en centimètres cubes (émulsion 5 p. 100) montrant une hémolyse nette en 30 minutes ; 5, titre de la plus haute dilution permettant un début d'hémolyse en 30 minutes ; 0, absence totale d'hémolyse ; N, normal ; R, coagulation retardée ; L, sérum lactescent ; LL, sérum fortement lactescent ; LH, sérum chargé d'hémoglobine.

minutes, respiration courte et rapide, avec des périodes de bradypnée devenant de plus en plus longues et fréquentes ; paralysie accusée des muscles de la nuque ; nystagmus ; trente-huit minutes, première période d'apnée ; état asphyxique ; quarante minutes, arrêt définitif de la respiration ; quarante-quatre minutes, arrêt du cœur.



GRAPHIQUE 1. — Chien N. III. Injection intraveineuse de 5 milligrammes de venin de *Naja tripudians*. Mort en quarante-six minutes. Pouvoir hémolytique du sérum pour : —, globules de chien (propre animal); —, globules de cheval; —, globules de mouton; —, globules de chien + venin de *Lachesis muta*.

Saignées : avant l'injection ; deux, cinq, cinq, quinze, trente et quarante-quatre minutes après l'injection (courbe n° 1).

Chien N R 1 ♀, 5.200 grammes ; fixé sur la table d'opérations. Injection intramusculaire de 15 milligrammes de venin dans la cuisse. Aucun symptôme pendant la première heure. Au début de la deuxième

heure, parésie des muscles de la nuque ; quatre-vingts minutes, salivation abondante, dyspnée intermittente ; quatre-vingt-dix minutes, paralysie progressive des muscles de la nuque ; début de paralysie laryngée et pharyngée ; cent quatre-vingts minutes, début de la paralysie des membres ; détaché de la table d'opérations, l'animal écarte très largement ses pattes antérieures pour se soutenir et s'effondre. Mort entre la huitième et la douzième heure.

Saignées : avant l'injection ; cinq, quinze, trente, quarante-cinq, soixante, quatre-vingt-dix, cent vingt, cent quatre-vingts et deux cent quarante minutes après l'injection.

	AVANT L'INJECTION	APRÈS L'INJECTION								
		5 minutes	15 minutes	30 minutes	45 minutes	60 minutes	90 minutes	120 minutes	180 minutes	240 minutes
1. Action hémolytique du sérum × propres globules	0	0,6	0,7	0,2	0	0	0	0	0	0
2. Action hémolytique du sérum × globules mouton	1,5	1,5	1,0	0,9	0,9	1,4	1,5	1,5	1,6	1,8
3. Action hémolytique du sérum × globules cheval	0,7	1,4	1,4	1,4	0,8	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6
4. Action hémolytique <i>in vitro</i> du sérum + venin <i>L. muta</i> × propres globules	0,8	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3	0	0	0	0
5. Résistance globulaire aux solu- tions hypotoniques, p. 1.000 .	3,6	5,2	4,8	4,4	4,0	4,0	3,6	3,6	3,6	3,6
6. Résistance globulaire aux hémoly- sines venimeuses	1,2	1,2	1,5	1,3	1,2	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2
7. Coagulation sanguine	N	N	N	R	R	R	R	R	R	R
8. Aspect du sérum	N	N	LH	LH	LH	H	N	N	N	N

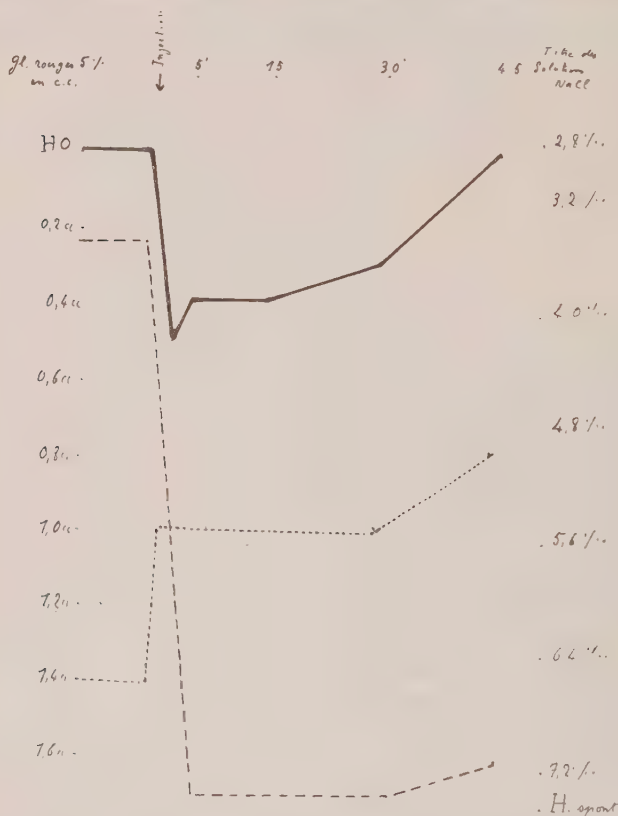
Observations : Entre 15 et 90 minutes après l'injection les hématies sont fragiles et se déforment facilement à la fixation (hématies épineuses).
Mêmes notations que dans le tableau précédent.

B. VENINS HÉMOLYTIQUES ET COAGULANTS. — A ce groupe appartiennent tous les échantillons de venins de *Crotalus terrificus* et de *Bothrops atrox* étudiés, ainsi que ceux de *B. erythromelas* et *Lachesis muta*.

Tous les venins de ce groupe possèdent, en plus de leurs propriétés hémolytiques d'intensité variable, une action coagulante marquée tendant à abréger *in vivo* la phase hémolytique positive en renforçant la résistance globulaire. Cette action n'est pas spécifique et s'exerce aussi bien en relation aux agents physiques, tels que l'agitation mécanique et

l'action des solutions hypotoniques, qu'en relation aux hémolysines venimeuses.

Le venin de *C. terrificus* du Venezuela, à la fois très coagulant (unité coagulante 0 milligr. 0008) et fortement hémolytique (unité hémolytique 0 milligr. 01) est un excellent



GRAPHIQUE 2. — Chien N. III. Injection intraveineuse de 5 milligrammes de venin de *Naja tripudians*. Mort en quarante-six minutes. —, résistance globulaire à l'action du propre sérum; ---, résistance globulaire à l'action des solutions hypotoniques; · · · · ·, résistance globulaire aux hémolysines venimeuses (sérum normal de cheval + venin *Lachesis muta*).

exemple de ce groupe ; il possède également une action protéasique marquée (unité protéolytique 0 milligr. 20 ; unité anti-complémentaire 0 milligr. 06).

Avec ce venin la formation des autohémolysines est très

active. Dans l'ensemble, les courbes sont analogues à celles obtenues avec le venin de *Naja tripudians*. Après les injections intraveineuses, le pouvoir hémolytique du sérum pour les propres globules passe par un maximum entre deux et cinq minutes, mais disparaît très tôt, en moins de trente minutes. Les injections intramusculaires exercent une action moins accentuée mais plus prolongée.

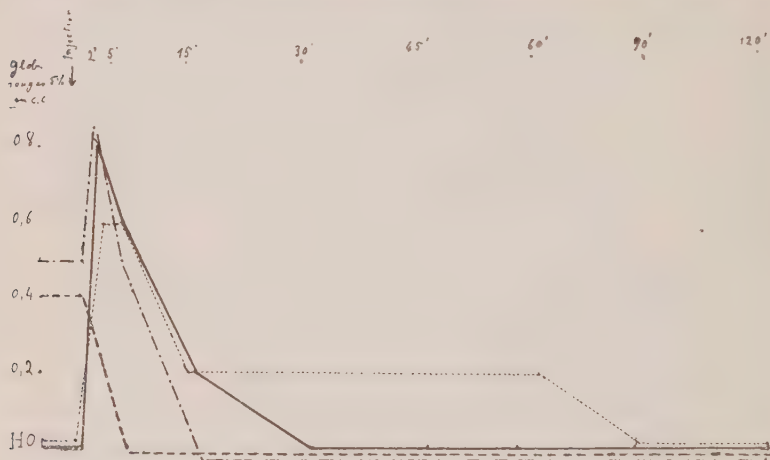
Les propriétés hémolytiques du sérum pour les *globules de mouton* présentent, comme avec le venin de *Naja*, une diminution rapide, dès l'apparition des autohémolysines, suivie de relèvement très lent après la disparition de ces dernières. Leur courbe revient beaucoup plus tardivement à la normale qu'avec le venin précédent (souvent plus de vingt-quatre heures). Dans certaines intoxications graves par voie veineuse l'action hémolytique du sérum pour les globules de mouton peut être totalement supprimée pendant plus de vingt-quatre heures.

En relation avec les *globules de cheval*, les variations sont également voisines de celles observées avec le venin de *Naja*. La courbe obtenue est encore influencée par deux facteurs opposés : la diminution des hémolysines naturelles et l'apparition, dans la circulation, d'hémolysines dues à l'action du venin sur les phosphatides du plasma. Les courbes de l'action hémolytique du sérum sur les globules de cheval et ceux de chien tendent à se rejoindre au début, quand les hémolysines naturelles diminuent. Avec un sérum très riche en hémolysines naturelles chien \times cheval, la courbe obtenue avec les globules de cheval descendra après l'injection pour se rapprocher de celle des globules de chien (chien XV) ; elle s'élèvera en même temps que cette dernière dans le cas d'un sérum pauvre en hémolysines naturelles (chien XVI). La courbe des globules de cheval accompagne ensuite dans ses grandes lignes celle obtenue avec les globules de chien ; elle revient lentement à sa valeur initiale quand les hémolysines venimeuses disparaissent. Le sérum de l'un de nos animaux (chien XV) a montré, le lendemain de l'injection, une élévation très marquée de son pouvoir hémolytique pour ces globules.

La diminution du *pouvoir hémolytique du sérum in vitro en présence d'un venin* est généralement un peu plus lente et

moins accusée que dans l'envenimation par le venin de *Naja*, traduisant une attaque moins profonde des phosphatides sanguins ; elle peut être précédée d'une légère élévation initiale (chien XVI). Dans certains cas, après des injections intramusculaires de doses non mortelles, cette diminution peut se poursuivre progressivement pendant plus de vingt-quatre heures, sans aboutir à la suppression totale.

La diminution de la *résistance globulaire à l'action des solutions salines hypotoniques* est encore considérable après les



GRAPHIQUE 3. — Chien XVI. Injection intraveineuse de 2 milligrammes de venin de *Cr. terrificus* (Venezuela). Mort en cent quatre-vingt-trois minutes. Pouvoir hémolytique du sérum pour : —, globules normaux de chien (propre animal); —, globules de cheval; —, globules de mouton; — · —, globules normaux de chien + venin de *Lachesis muta*.

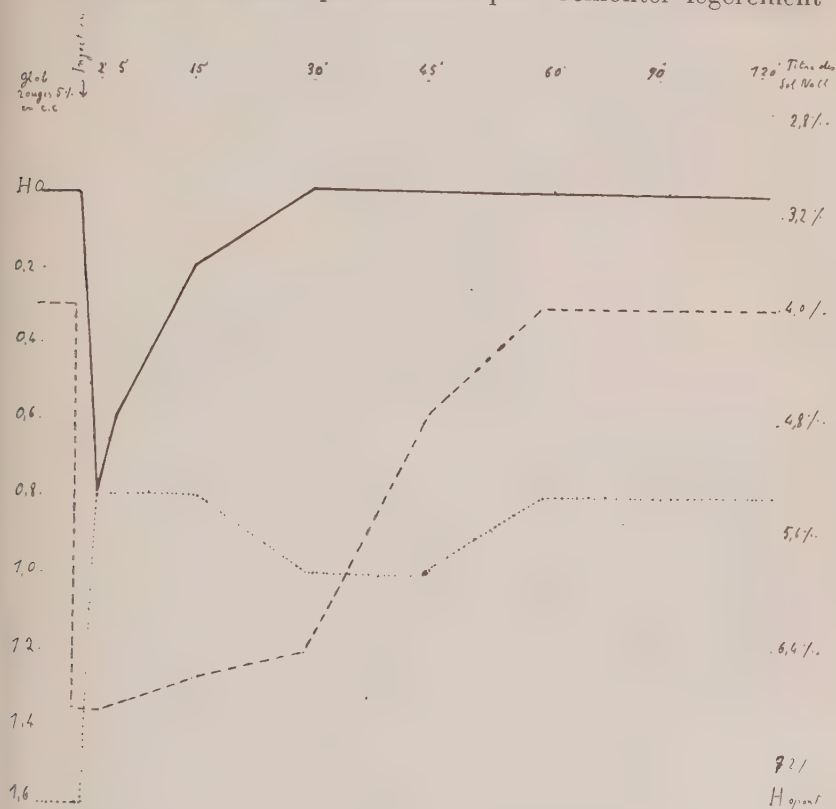
injections intraveineuses, sans être cependant aussi marquée qu'avec le venin non coagulant de *Naja* ; dès la fin de la première heure après l'injection, elle revient à sa valeur initiale.

Les injections intramusculaires ont une action plus faible et un peu plus prolongée, comme avec le venin précédent. Aucun animal n'a présenté d'élévation au-dessus de sa valeur initiale de la résistance globulaire aux solutions hypotoniques.

L'élévation de la *résistance globulaire à l'action des hémolysines venimeuses* est plus accentuée qu'avec le venin de *Naja*, étant renforcée par l'action coagulante du venin. Elle débute dès l'apparition des hémolysines circulantes ; brusque

et très accusée après les injections intraveineuses, elle est plus lente et plus faible après les injections intramusculaires.

Quand les hémolysines disparaissent de la circulation, la courbe de la résistance globulaire se maintient en plateau ou s'abaisse de façon peu sensible pour remonter légèrement



GRAPHIQUE 4. — Chien XVI. Injection intraveineuse de 2 milligrammes de venin de *Cr. terrificus* (Venezuela). Mort en cent quatre-vingt-trois minutes. —, résistance globulaire à l'action du propre sérum; — — —, résistance globulaire à l'action des solutions hypotoniques; — — — — —, résistance globulaire aux hémolysines venimeuses.

vers la fin de la première heure. Elle peut ne revenir que le lendemain au voisinage de la normale.

Deux animaux serviront encore d'exemple.

Chien XVI ♂, 6.500 grammes ; fixé sur la table d'opérations. Injec-

tion intraveineuse de 2 milligrammes de venin de *C. t.* du Venezuela. Choc immédiat, très accusé ; respiration tumultueuse, puis syncope respiratoire (cent vingt minutes) ; relâchement des sphincters, inconscience. Pendant quinze minutes la respiration est très lente, à peine perceptible, puis l'état général s'améliore progressivement et, trente minutes après l'injection, l'état de choc est dissipé. Agitation, cris. Quatre-vingt-dix minutes, début de paralysie ; la voix et la vision disparaissent ; respiration courte, saccadée, de type diaphragmatique ; myosis ; tachycardie ; le moindre choc déclenche des crises généralisées de tremblements. Cent vingt minutes, paralysie motrice complète ; diarrhée, sans hémorragies. Cent soixante-dix-neuf minutes, arrêt de la respiration. Cent quatre-vingt-trois minutes, arrêt du cœur.

	AVANT L'INJECTION	APRÈS L'INJECTION								
		2 minutes	5 minutes	15 minutes	30 minutes	45 minutes	60 minutes	90 minutes	120 minutes	180 minutes
1. Action hémolytique du sérum × propres globules	0	0,8	0,6	0,2	0	0	0	0	0	0
2. Action hémolytique du sérum × globules mouton	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3. Action hémolytique du sérum × globules cheval	0	0,6	0,6	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0	0
4. Action hémolytique <i>in vitro</i> du sérum + venin <i>L. muta</i> × propres globules	0,5	0,8	0,5	0	0	0	0	0	0	0
5. Résistance globulaire aux solu- tions hypotoniques, p. 1.000 .	4,0	6,8	6,8	6,6	6,4	4,8	4,0	4,0	4,0	4,0
6. Résistance globulaire aux hémolysines venimeuses	2	0,8	0,8	0,8	1,0	1,0	0,8	0,8	0,8	0,8
7. Temps de coagulation sanguine, en secondes	250 N	150 LL	60 LL	60(1) L	0 L	0 LH	0 LH	0 H	0 h	0 h
8. Aspect du sérum										

Observations : H, sérum chargé d'hémoglobine ; h, sérum légèrement chargé d'hémoglobine. Autres abréviations, comme dans les tableaux précédents.
(1) Début de coagulation en 60 secondes, mais la coagulation reste incomplète.

Saignées : avant l'injection ; deux, cinq, quinze, trente, quarante-cinq, soixante, quatre-vingt-dix, cent vingt et cent quatre-vingts minutes après l'injection (courbe n° 2).

Chien XV ♂, 9.500 grammes ; fixé sur la table d'opérations. Injection intramusculaire de 25 milligrammes de venin *C. t.* du Venezuela dans la cuisse. Agitation, cris immédiats. Deux minutes, respiration lente et profonde. Trois minutes, crises répétées de tremblements généralisés épileptiformes. Vingt minutes, état de choc incomplet, torpeur profonde, respiration très lente ; cet état dure une vingtaine de minutes, puis se dissipe. Soixante minutes, œdème au point de l'injection. Cent cin-

quante minutes, gros œdème local, hémorragique et douloureux. Deux cent quarante minutes, parésie légère rendant la station debout et la marche difficiles. Vingt-quatre heures, bon état général, gros œdème hémorragique envahissant toute la patte et une partie de la paroi abdominale. Se rétablit.

Saignées : avant l'injection ; cinq, quinze, trente, quarante-cinq, soixante, quatre-vingt-dix, cent vingt, cent quatre-vingts, deux cent quarante minutes et vingt-quatre heures après l'injection.

	AVANT L'INJECTION	APRÈS L'INJECTION									
		5 minutes	15 minutes	30 minutes	45 minutes	60 minutes	90 minutes	120 minutes	180 minutes	240 minutes	24 heures
1. Action hémolytique du sérum X propres globules	0	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3	0,2	0	0	0	0
2. Action hémolytique du sérum X globules mouton	2,0	1,2	0,9	1,2	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,6	2,0
3. Action hémolytique du sérum X globules cheval	0,6	0,5	0,4	0,8	0,5	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6	1,2
4. Action hémolytique <i>in vitro</i> du sérum + venin <i>L. muta</i> X propres globules	1,2	0,9	0,9	0,9	0,8	0,7	0,7	0,7	0,6	0,4	0,2
5. Résistance globulaire aux solu- tions hypotoniques, p. 1.000	3,6	4,4	4,4	4,6	4,2	4,0	4,0	4,0	3,8	3,6	3,6
6. Résistance globulaire aux hémoly- sines venimeuses	1,5	1,5	1,4	1,4	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,4
7. Temps de coagulation sanguine, en secondes	240	60	80	80	80	70	70	70	180	240	250
8. Aspect du sérum	N	N	N	LL	LL	LH	L	L	L	N	N

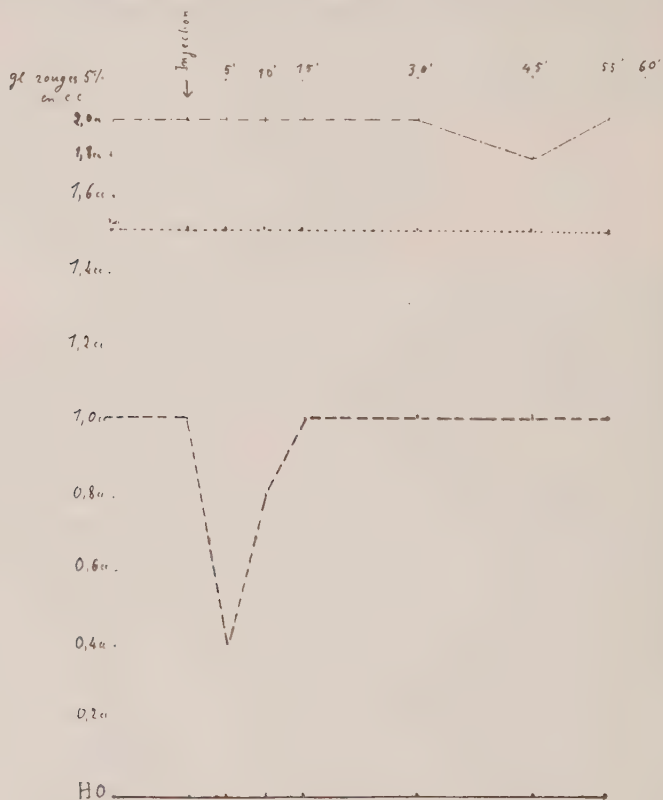
Observations : Mêmes notations que ci-dessus.

C. VENINS COAGULANTS, PEU OU PAS HÉMOLYTIQUES. — Seulement deux venins étudiés : *Bothrops alternata* et *B. jararaca*, appartiennent à ce groupe.

Le venin de *B. alternata* (échantillon d'Argentine) est très peu hémolytique *in vitro* (unité hémolytique 1 milligr. 0), fortement coagulant (unité coagulante 0 milligr. 0006) et possède en plus une action énergique sur les protéides (unité anti-coagulante 0 milligr. 15 ; unité anti-complémentaire 0 milligr. 10 ; unité protéolytique 1 milligr. 0).

Chez le chien, les injections intraveineuses ou intramusculaires n'ont pas provoqué l'apparition de protéides hémolytiques appréciables pour les propres globules. L'activité hémoly-

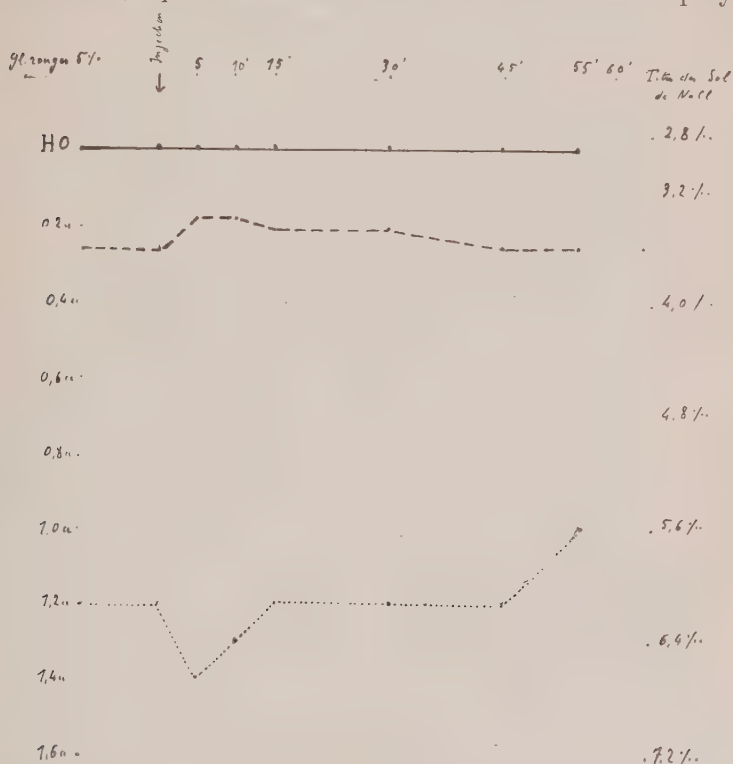
lytique sur les globules hétérologues (cheval, mouton) est peu modifiée, dans quelques cas on observe aussitôt après les injections intraveineuses (entre cinq et quarante-cinq minutes) une légère diminution passagère ; elle est plus tardive et un peu plus prolongée après les injections intramusculaires.



GRAPHIQUE 5. — *Chien Alternata III*. Injection intraveineuse de 0 milligr. 5 de venin de *Bothrops alternata*. Mort en cinquante-cinq minutes. Pouvoir hémolytique du sérum pour : —, globules normaux de chien (propre animal); —, globules de cheval; —, globules de mouton; — · —, globules normaux de chien + venin de *Lachesis muta*.

Le pouvoir hémolytique du sérum *in vitro* en présence d'un venin (*L. muta*) n'offre pas non plus de modifications appréciables (très légère diminution tardive dans quelques cas), soulignant l'insignifiance de l'attaque des phosphatides au cours de l'envenimation.

L'action directe sur les globules rouges est un peu plus marquée. Les petites doses de venin, soit par voie intraveineuse, soit par voie intramusculaire, élèvent transitoirement après l'injection la résistance globulaire à l'action des solutions hypotoniques (les variations observées ont été de l'ordre de 0,1 à 0,3 p. 1.000 dans le titre des dilutions employées



GRAPHIQUE 6. — Chien *Alternata* III. Injection intraveineuse de 0 milligr. 5 de venin de *Bothrops alternata*. Mort en cinquante-cinq minutes. —, résistance globulaire à l'action du propre sérum; — — —, résistance globulaire à l'action des solutions hypotoniques; — · — · —, résistance globulaire aux hémolysines venimeuses.

comme réactifs) ; des doses plus fortes provoquent souvent une diminution légère, également passagère.

La résistance globulaire aux hémolysines venimeuses s'élève de façon modérée mais constante, au cours de la première heure, quelle que soit la voie d'introduction du venin ; dans

certain cas (courbe 3), après les injections intraveineuses, cette élévation est précédée d'une très courte diminution, analogue à celle signalée avec le venin de *Naja*. Généralement la résistance globulaire revient à la normale en quelques heures; après l'injection de fortes doses de venin par voie intramusculaire, elle peut être encore supérieure à la normale vingt-quatre heures plus tard.

Chien Alt. III ♂, 9.000 grammes; fixé sur la table d'opérations. Injection intraveineuse de 0 milligr. 5 de venin. Absence de choc immédiat; la respiration est à peine accélérée. Cinq minutes, tremblements généralisés. Quarante minutes, vomissements, puis syncope respiratoire; émission d'urine et de fèces; après deux minutes d'apnée, les mouvements respiratoires réapparaissent très lents et de faible amplitude. Nouvelle période d'apnée (cinquante-deux minutes). Arrêt du cœur en cinquante-cinq minutes.

Saignées: avant l'injection; cinq, dix, quinze, trente, quarante-cinq et cinquante-cinq minutes après l'injection (courbe 3).

	AVANT L'INJECTION	APRÈS L'INJECTION					
		5 minutes	10 minutes	15 minutes	30 minutes	45 minutes	55 minutes
1. Action hémolytique du sérum X propres globules	0	0	0	0	0	0	0
2. Action hémolytique du sérum X globules mouton	1,0	0,4	0,8	1,0	1,0	1,0	1,0
3. Action hémolytique du sérum X globules cheval	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
4. Action hémolytique <i>in vitro</i> du sérum + venin <i>L. muta</i> X propres globules	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	1,8	2,0
5. Résistance globulaire aux solu- tions hypotoniques, p. 1.000.	3,6	3,4	3,4	3,5	3,5	3,6	3,6
6. Résistance globulaire aux hémoly- sines venimeuses	1,2	1,4	1,3	1,2	1,2	1,2	1,0
7. Temps de coagulation sanguine, en secondes	300	70	70	80 (1)	0	0	0
8. Aspect du sérum	N	N	N	N	h	h	N

Observations : Mêmes notations que ci-dessus.
(1) Début de coagulation en 80 secondes; mais la coagulation reste incomplète.

Chien Alt. I ♀, 7.000 grammes; fixé sur la table d'opérations. Injection intramusculaire de 30 milligrammes de venin dans la cuisse. Pas de symptômes immédiats, en dehors des manifestations de douleur. Cinq minutes, respiration lente et profonde. Dix minutes, légère

dyspnée. Trente-cinq minutes, œdème local, hémorragique, déjà appréciable. Cent cinquante minutes, affaiblissement progressif de l'animal. Mort en cent quatre-vingts minutes, provoquée par un très gros épanchement sanguin dans le péricarde (accident pendant la saignée).

Saignées : avant l'injection ; cinq, quinze, trente, quarante-cinq, soixante, quatre vingt-dix, cent vingt, cent cinquante et cent quatre-vingts minutes après l'injection.

	AVANT L'INJECTION	APRÈS L'INJECTION								
		5 minutes	15 minutes	30 minutes	45 minutes	60 minutes	90 minutes	120 minutes	150 minutes	180 minutes
1. Action hémolytique du sérum × propres globules	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Action hémolytique du sérum × globules mouton	1,0	1,0	1,0	0,9	0,9	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0
3. Action hémolytique du sérum × globules cheval.	0,7	0,7	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7
4. Action hémolytique <i>in vitro</i> du sérum + venin <i>L. muta</i> × propres globules	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
5. Résistance globulaire aux solu- tions hypotoniques, p. 1.000	3,6	3,6	4,0	4,2	4,2	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6
6. Résistance globulaire aux hémoly- sines venimeuses	1,4	1,4	1,4	1,2	1,0	1,0	1,0	1,2	1,2	1,2
7. Temps de coagulation sanguine, en secondes	240	240	110	100	80	80	90	90	90 (1)	0
8. Aspect du sérum	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

Observations : Mêmes notations que ci-dessus.

(1) Début de coagulation en 90 secondes, mais la coagulation reste incomplète.

Observations : Mêmes notations que ci-dessus.

(1) Début de coagulation en 90 secondes, mais la coagulation reste incomplète.

L'action du venin de *B. jararaca* (Rio de Janeiro) est peu différente. *In vitro* ce venin possède des propriétés hémolytiques un peu plus accusées que celles du venin de *B. alternata* (unité hémolytique 0,15) qui ne se sont traduites au cours de l'envenimation chez le chien que par des variations de la résistance globulaire analogues à celles observées avec le venin précédent ; le sérum n'a pas montré d'action hémolytique appréciable pour ses propres globules ; l'action sur les globules hétérologues est peu modifiée.

L'action protéasique très élevée de ces deux venins concourt à limiter leur action coagulante et leur faible action hémolytique. Celle-ci apparaît plus nette après suppression de l'action protéasique, par exemple par la chaleur.

Chauffés au bain-marie entre 70° et 72° C pendant trente minutes, les venins de *B. alternata* et *B. jararaca* perdent leurs propriétés protéasiques : leur action coagulante est légèrement atténuée, d'où une meilleure tolérance par voie veineuse des venins ainsi modifiés. Injectés au chien ils montrent une action phosphatidasique modérée, beaucoup plus nette que celle des mêmes venins non chauffés : formation d'hémolysines pour les propres globules ; diminution temporaire des hémolysines naturelles pour les globules hétérologues ; petite diminution des propriétés hémolytiques du sérum *in vitro* en présence d'un venin ; élévation marquée de la résistance globulaire aux hémolysines venimeuses ; la diminution de la résistance globulaire aux solutions hypotoniques est peu sensible.

Chien J. II ♂, 6.900 grammes ; témoin ; fixé sur la table d'opérations. Injection intraveineuse de 1 milligramme de venin de *B. jararaca*, non chauffé. Choc très violent neuf minutes après l'injection ; apnée de quatre minutes ; bradycardie énorme ; disparition du pouls fémoral ; émission d'urine et de fèces. Amélioration notable en vingt minutes ; mouvements respiratoires lents, de faible amplitude. A partir de la

	AVANT L'INJECTION	APRÈS L'INJECTION							
		5 minutes	10 minutes	15 minutes	30 minutes	45 minutes	60 minutes	120 minutes	150 minutes
1. Action hémolytique du sérum × propres globules	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2. Action hémolytique du sérum × globules mouton	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
3. Action hémolytique du sérum × globules cheval	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
4. Action hémolytique <i>in vitro</i> du sérum + venin <i>L. muta</i> × propres globules	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
5. Résistance globulaire aux solu- tions hypotoniques, p. 1.000 .	3,6	3,6	3,3	3,4	3,4	3,4	3,6	3,6	3,6
6. Résistance globulaire aux hémolysines venimeuses	2,0	2,0	1,8	1,8	1,6	1,4	1,0	1,0	0,8
7. Temps de coagulation sanguine, en secondes	250	80	60	60	10	0	0	0	0
8. Aspect du sérum	N	N	N	N	N	N	N	N	N

Observations : Mêmes notations que ci-dessus.

1) Début de coagulation en 60 secondes, mais la coagulation reste incomplète.

deuxième heure, affaiblissement progressif ; mort en cent soixante minutes.

Saignées : avant l'injection ; cinq, dix, quinze, trente, quarante-cinq, soixante, cent vingt et cent cinquante minutes après l'injection.

Chien J. IV ♀, 5.200 grammes ; fixé sur la table d'opérations. Injection intraveineuse de 2 milligr. 5 de venin de *B. jararaca*, chauffé trente minutes à 70-72° C. Absence totale de choc ; les symptômes se limitent à une légère fatigue pendant les premières heures après l'injection. Complètement rétabli le lendemain.

Saignées : avant l'injection ; deux, cinq, quinze, trente, soixante, cent soixante-dix minutes et vingt-quatre heures après l'injection.

	AVANT L'INJECTION	APRÈS L'INJECTION						
		2 minutes	5 minutes	15 minutes	30 minutes	60 minutes	170 minutes	24 heures
1. Action hémolytique du sérum × propres globules	0	0,2	0,6	0,4	0	0	0	0
2. Action hémolytique du sérum × globules mouton	1,4	0,8	0,8	1,0	1,2	1,4	1,4	1,4
3. Action hémolytique du sérum × globules cheval	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
4. Action hémolytique <i>in vitro</i> du sérum + venin <i>L. muta</i> × propres globules	1,5	1,3	1,2	1,0	1,0	0,9	0,9	1,0
5. Résistance globulaire aux solu- tions hypotoniques, p. 1.000 .	3,6	4,4	4,4	4,2	4,0	3,6	3,6	3,6
6. Résistance globulaire aux hémoly- sines venimeuses	1,8	1,8	1,2	1,2	1,0	1,0	1,0	1,6
7. Temps de coagulation sanguine, en secondes	300	180	120	120	120	210	220	280
8. Aspect du sérum	N	L	H	H	H	h	h	N

AUTRES VENINS ÉTUDIÉS.

Le venin d'Elaps lenniscatus (serpent corail ; région de Pernambuco) se rapproche beaucoup de celui de *Naja* par ses propriétés phosphatidasiques élevées et l'absence d'action protéasique ; il possède une très légère action coagulante *in vitro* (unité coagulante 0 milligr. 2) ; *in vivo* il est anti-coagulant. Son action chez le chien est presque identique à celle du venin de *Naja*, mais l'élévation de la résistance globulaire aux hémolysines venimeuses est bien plus marquée.

Venin de Crotalus terrificus (échantillon de Pernambuco). *In vitro* le venin de serpent à sonnettes de cette région est à peu près dépourvu d'action protéolytique (vestige d'attaque de la gélatine avec 2 milligr. 5) ; son action coagulante et son action hémolytique sont légèrement inférieures à celles des échantillons vénézuéliens (unité coagulante 0 milligr. 0010 ; unité hémolytique 6 milligr. 02). Chez le chien, son action sur les variations de la résistance globulaire et la formation d'autohémolysines est en général un peu plus accusée que celle du venin du Venezuela, malgré la plus forte activité hémolytique *in vitro* de ce dernier. L'action protéasique marquée du venin vénézuélien tend à diminuer *in vivo* son action hémolytique, d'où cette différence.

Le venin de C. terrificus de l'Argentine est fortement coagulant *in vitro* (unité coagulante 0 milligr. 0008), mais moins hémolytique que les échantillons de Pernambuco (unité hémolytique 0 milligr. 08) et dépourvu également d'action protéolytique. Son action chez le chien est analogue à celle des échantillons précédents, mais bien moins accusée.

Le venin de C. terrificus du Brésil central (venin blanc) est très fortement coagulant *in vitro* (unité coagulante 0 milligr. 0004), mais très peu hémolytique (unité hémolytique 0 milligr. 20) et sans action protéolytique. Chez le chien son action est encore moins accusée que celle du venin argentin. Après les injections intramusculaires, la formation d'autohémolysines et les modifications de la résistance globulaire sont souvent peu appréciables.

Le venin de Lachesis muta (de Pernambuco) possède *in vitro* des propriétés coagulantes très élevées (unité coagulante 0 milligr. 0002) ; son action hémolytique est presque identique à celle du venin de *C. terrificus* de Pernambuco (unité hémolytique 0 milligr. 025) ; ses propriétés protéasiques sont moins accusées que celles du venin vénézuélien de *C. terrificus* (unité protéolytique 0 milligr. 6 ; unité anti-complémentaire 1 milligr. 3 ; unité anti-coagulante 0 milligr. 04). Son action chez le chien se rapproche de celle du Crotale vénézuélien par injection intraveineuse ; elle est sensiblement plus faible par voie intramusculaire.

Le venin de Bothrops atrox du Venezuela est le plus coagu-

lant *in vitro* des venins étudiés (unité coagulante 0 milligr. 00015) ; il possède une forte action hémolytique (unité hémolytique 0 milligr. 02) et des propriétés protéasiques modérées (unité protéolytique 2 milligr. 5 ; unité anti-complémentaire 0 milligr. 60 ; unité anti-coagulante 2 milligr. 5). Chez le chien son action sur les propriétés hémolytiques du sérum est sensiblement plus faible que celle du venin de *C. terrificus* vénézuélien, surtout après les injections intramusculaires ; mais il produit une élévation beaucoup plus marquée de la résistance globulaire aux hémolysines venimeuses due à ses propriétés coagulantes énergiques.

Le venin de *B. atrox* du Nord-Est du Brésil se distingue *in vitro* des échantillons du Venezuela par sa plus forte action protéasique (unité protéolytique 0 milligr. 10 ; unité anti-complémentaire 0 milligr. 01 ; unité anti-coagulante 0 milligr. 10) et ses propriétés hémolytiques et coagulantes moins accentuées (unité hémolytique 0 milligr. 40 ; unité coagulante 0 milligr. 00075). *In vivo* son action est peu différente de celle du venin vénézuélien.

Le venin de *B. erythromelas* (Pernambouc) est fortement coagulant (unité coagulante 0 milligr. 00020) et protéolytique *in vitro* (unité protéolytique 0 milligr. 25 ; unité anti-complémentaire 0 milligr. 04 ; unité anti-coagulante 0 milligr. 70) ; son action hémolytique est en grande partie masquée par ses propriétés coagulantes et protéasiques. *In vivo* son action hémolytique est très accusée, surtout après les injections intraveineuses ; il provoque l'apparition d'hémolysines circulantes très actives pour les propres globules, entraînant une forte diminution de la résistance globulaire aux solutions hypotoniques et une diminution passagère des hémolysines naturelles pour les globules hétérologues ; le sérum perd très rapidement ses propriétés hémolytiques au contact d'un venin *in vitro* ; la résistance globulaire aux hémolysines venimeuses augmente dans de fortes proportions.

CONCLUSIONS.

Les venins possédant des propriétés phosphatidasiques élevées et non coagulantes (*Naja tripudians*) provoquent chez le

chien, au début de leur action, l'apparition dans la circulation de propriétés hémolytiques puissantes (*phase positive*) amenant une destruction massive des globules rouges avec mise en liberté d'hémoglobine ; la résistance globulaire aux solutions hypotoniques ou à toute autre action physique (agitation, etc...) diminuée de façon considérable. Cette première phase est toujours brève.

Dans une phase postérieure (*phase négative*), la démolition des phosphatides s'accroissant, ces propriétés hémolytiques disparaissent ; la résistance globulaire aux solutions hypotoniques ou aux actions physiques revient à la normale. Au cours de cette seconde phase, la diminution considérable et les transformations des phosphatides sanguins se traduisent encore par la disparition progressive de la propriété normale du sérum de chien de devenir hémolytique *in vitro* en présence d'un venin.

Les hémolysines naturelles du sérum pour les globules hétérologues (cheval, mouton) diminuent au cours de la phase positive, pour revenir ensuite assez vite au voisinage de leur valeur primitive.

La diminution, souvent considérable, de la résistance globulaire aux solutions hypotoniques au cours de la phase positive est due à l'action des hémolysines formées dans la circulation. Le venin exerce, en outre, une action directe sur les phosphatides globulaires, identique à son action sur les phosphatides du plasma. Au début (*phase positive*), il provoque la déformation des globules rouges qui augmentent de volume sans arriver à hémolyser spontanément ; leur résistance aux hémolysines venimeuses diminue. Après cette première phase, très fugace et souvent difficile à saisir, la résistance globulaire aux hémolysines venimeuses augmente progressivement (*phase négative*).

Suivant la voie d'introduction du venin et la dose employée, ces phénomènes évoluent plus ou moins vite. Quelles que soient les conditions expérimentales, les autohémolysines apparues dans la circulation persistent rarement au delà de la première heure (moyenne trente à quarante-cinq minutes). La régénération des phosphatides est toujours lente ; normalement, plus de vingt-quatre heures sont nécessaires pour que

le sérum récupère ses capacités hémolytiques en présence d'un venin *in vitro*.

L'action des venins coagulants et phosphatidasiques (*Crotalus terrificus*) est semblable, dans ses grandes lignes, à celle du venin de *Naja* ; mais leur action coagulante renforce la résistance globulaire aux hémolysines venimeuses, atténue la baisse de la résistance globulaire aux solutions hypotoniques, et tend à diminuer leur action hémolytique.

Cette action antagoniste de l'hémolyse est encore plus marquée avec les venins à la fois très coagulants et fortement protéasiques (divers Crotalinés sud-américains). Leur action hémolytique *in vivo* peut être entièrement masquée et la résistance globulaire aux solutions hypotoniques peut s'élever dès le début de l'intoxication (même pour les globules lavés) ; mais les propriétés hémolytiques réapparaissent en employant ces mêmes venins, chauffés au bain-marie à 72° C pour détruire leur action protéasique.

Ces faits sont confirmés par des observations antérieures *in vitro* sur les variations de la résistance globulaire en présence de divers types de venins et sur l'action hémolytique des venins en présence de sérums normaux.

La démolition progressive des phosphatides sanguins faisant disparaître rapidement de la circulation les propriétés hémolytiques, apparues au début de l'envenimation, et l'élévation rapide de la résistance globulaire aux hémolysines venimeuses arrêtent la destruction des globules rouges et jouent un rôle important dans la défense de l'organisme, au cours des accidents provoqués par les venins de serpents.

Le Gérant : G. MASSON.

